

エタノールリグニンスルホン酸の腫瘍抑制作用

村上, 浩紀
九州大学農学部食糧化学教室

村上, 進
九州大学農学部食糧化学教室

<https://doi.org/10.15017/23204>

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 30 (3), pp.95-103, 1975-11. 九州大学農学部
バージョン：
権利関係：



エタノールリグニンスルホン酸の腫瘍抑制作用

村 上 浩 紀・村 上 進

九州大学農学部食糧化学教室
(1975年5月1日受理)

Antitumor Potency of Ethanol Lignosulfonate

HIROKI MURAKAMI and SUSUMU MURAKAMI

Food Chemistry Institute, Faculty of Agriculture,
Kyushu University, Fukuoka

著者ら(村上ら, 1975; 村上・村上, 1975)はリグニンスルホン酸(LSA)から, より抗腫瘍能の強力な物質を得る目的で, これに種々の化学処理を行ってきた。本報ではエタノリシスをほどこしたLSAについてその抗腫瘍能を検定するとともに, その効果の発現と化学構造との関係について検討した。

実験方法および結果

LSAは山陽国策パルプ(株)より入手した。これをそのまま以下の試験に供した。

1. エタノール LSA (E-1, E-2) の調製

a. エタノリシス

エタノールLSAの調製はPatterson and Hibbert (1943)の方法によった。LSA 2gをエタノール43mlにけん濁し, 触媒として2%になるように濃塩酸を添加混合した。これを内径0.8cm, 長さ30cmの硬質ガラス管に移したのち, 封管して沸騰水浴中で10時間加熱した。反応の進行に伴ってLSAのエタノール不溶部は減少し, 反応終了時には封管中に不溶性物質は認められなくなった。一般に酸触媒による反応は基質に対して一次反応で進行するが, LSAのアルコリシスによるフェノール性物質の脱離は副反応が伴うために, 必ずしもその一次反応速度定数は一定値をとらない。このガラス管を冷却下で爆発を予防しながら開管後, 反応液を減圧下にペースト状になるまで濃縮した。このペーストは酸性であるので, そのままエチルエーテルを添加してエーテル可溶部を抽出除去した。このエーテル可溶部にはHibbertのケトンと称される数種のフェニルプロパン系のケトンおよ

びそのシリリング誘導体が含まれている。リグニンからはこのエーテル可溶部は最高収率10%で得られるとされている(八浜, 1957)が, LSAに対しての著者らの試験の結果からはそれほど大量には採取できなかった。

このようなエタノリシスによって得られたエーテル不溶性部分, すなわちエタノールLSAは水に易溶性であった。これをSephadex G-50を用いたゲル濾過により, その分子量から2成分に分別した。

b. ゲル濾過によるエタノール LSA および未処理 LSA の分別

常用の条件(村上ら, 1975; 村上・村上, 1975)でSephadex G-50カラムクロマトグラフィーを行ない, エタノールLSAを分別した。すなわち, ゲルを充填したカラム(1.8×110cm)に試料溶液3ml(5mg/ml)を添加して3ml/tube/3.5min.で分取した。分画番号16~20をE-1, 40~44をE-2とした。そのクロマトグラムをFig.1に示す。またFig.2に同条件で実施した未処理LSAのクロマトグラムを示す。分画番号16~18をUL-1, 39~43をUL-2とした。E-1とUL-1はクロマトグラム上のほぼ同位置に流出した。この位置はゲル粒子内に拡散浸透できないような巨大分子(分子量8,000以上)が流出する位置である。この位置における単一のピークは必ずしも単一分子種からなることを示すのではなく, このピーク中に含まれる複数の分子種の分子量の下限が8,000程度であることを意味している。したがって両図におけるE-1とUL-1の流出位置が等しくても, この両者の平均分子量が同一であることにはならない。しかし, 両図の流出パターンを比較すると, エタ

ノリシによって LSA の高分子成分の分解が起こり、低分子部分が増加したことが明らかである。E-1

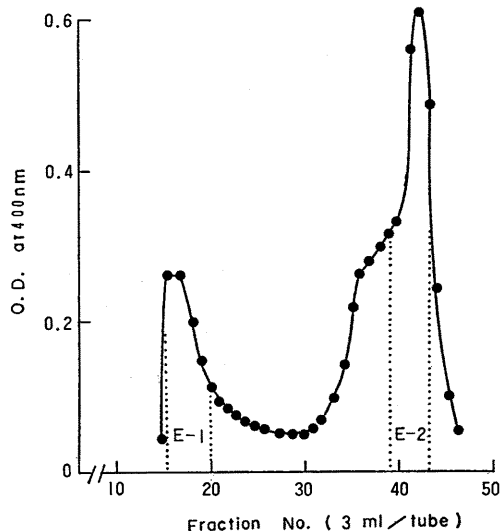


Fig. 1. Sephadex G-50 column chromatogram of ethanolysis product of LSA. Five mg of sample dissolved in 3 ml of deionized water was charged on a column (1.8 $\times$ 110 cm). Flow rate was 50 ml/h. The material eluted was detected by the absorbancy at 400 nm. Both E-1 and E-2 were separately collected, and used for the experiments.

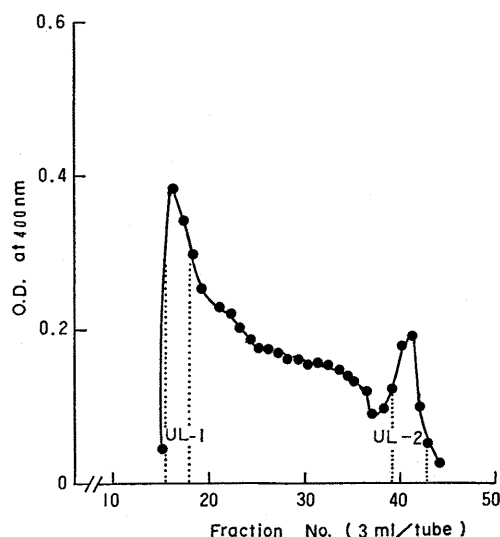


Fig. 2. Sephadex G-50 column chromatogram of untreated LSA. The chromatographic procedure was the same as that of ethanolysis product of LSA, shown in Fig. 1. Each part enclosed by dotted lines was named as UL-1 or UL-2.

は UL-1 中の多種の分子種のうち、エタノリシスに抵抗性のものか、あるいは UL-1 中のより高分子の部分分解されて生じたものかのいずれかであると考えられる。

2. 製剤の分光分析

製剤 E-1 の紫外、可視吸光スペクトルおよび各波長における E-1 の吸光値から未処理 LSA のそれを差し引いて得られる ΔE_r を Fig. 3 に、E-2 のそれらについては Fig. 4 に示す。これら両製剤の吸光度 ($\log E$) は C_6-C_3 単位あたりのものである。エタノリシス処理によって得られた E-1、E-2 の吸光値はいずれも全波長領域にわたって未処理 LSA のそれよりも増大した。その増加度の傾向は E-1 の方が全般的に E-2 よりも大であった。

LSA は置換フェノール基の寄与によって、280 nm に極大値をもつが、E-1 ではその極大吸収は短波長側に移動して 270 nm 附近にあらわれた。したがってその ΔE_r スペクトルは 250 nm 近傍で最も正となり、300 nm に肩をもった曲線となった。一方 E-2 では吸光値の極大は 275 nm にあり、E-1 のそれよりも 5 nm 長波長側にあった。E-2 の ΔE_r スペクトルは 270 および 300 nm に極大値をもっており、この二波長領域で未処理の LSA と E-2 との吸光値の差が著しいことがわかる。波長 340~380 nm にお

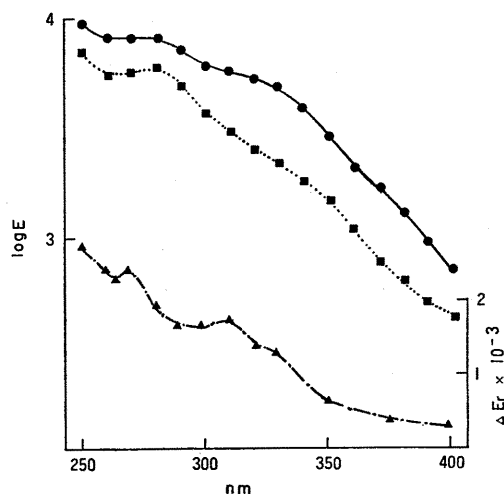


Fig. 3. Absorption spectra of E-1 (●—●) and untreated LSA (■.....■). By subtracting absorption coefficient ($\log E$) of untreated LSA from that of E-1 at corresponding wave lengths, ΔE_r spectrum (▲—▲) was obtained.

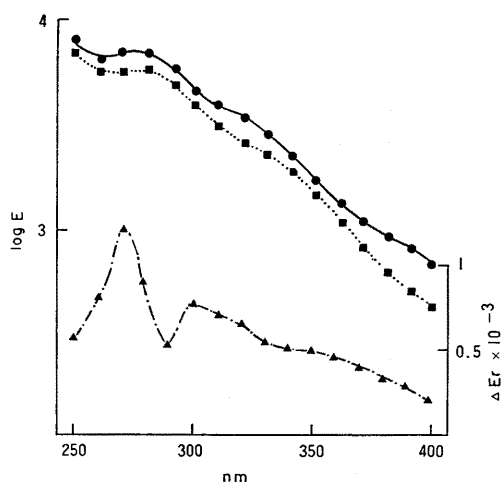
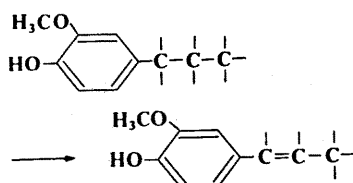


Fig. 4. Absorption (●—●) and ΔE_r (▲—▲) spectra of E-2. Absorption spectrum of untreated LSA (■····■) was also described.

いは ΔE_r スペクトルはほぼ平坦であり、長波長側での E-2 の吸光値と未処理 LSA のそれとの差が大きくなった。このように E-1, E-2 の ΔE_r スペクトルの変化は程度の差はあっても 250 および 300 nm 近傍において顕著であった。フェノールに簡単な置換基を導入してもこれらの波長においてそのモル吸光値はほとんど影響されないのであるから、このような ΔE_r スペクトルの変動はフェノール性水酸基以外の官能基がエタノリシスによって生成したことを示している。グアヤシルプロパン誘導体が存在するときのみ 300 nm より長波長側に吸収が示されるので、これらの新たに生成した官能基は不飽和結合が芳香環と共役したものである。Sarkanen and Schuerch (1957) はこの種の官能基の性質を明らかにするために既知のモデル物質を用いて検討した。イソオイゲノールの吸光スペクトルと p-プロピルグアヤコールのそれとの差、あるいはデヒドロイソオイゲノールとジヒドロ-デヒドロイソオイゲノールの比較によって、下記のようにフェニルプロパン骨格の α -位の炭素に二重結合が導入されると、波長 250 および 300 nm 附近に著しい吸光変化が生ずることが示された。また



グアヤシルグリセロール- β -グアヤシルエーテルとそのケト型、あるいはジヒドロオイゲノールとそのケト型の吸収スペクトルを比較することによって、フェニルプロパンの α -炭素にカルボニル基が生成すると 270 および 300 nm に強い吸収変化があらわれることが明らかにされた (Herbert *et al.*, 1956)。このように、リグニンの ΔE_r スペクトルの 250 nm における強い吸収および 300 nm における弱い吸収は、芳香環と共役したエチレン結合に由来しており、300 nm および 270 nm 領域のそれは α -カルボニル基に相当すると考えられる。

製剤 E-1 は 250, 270 および 300 nm 近傍に、E-2 は 270 および 300 nm にそれぞれ吸収極大が認められた。E-1 の各波長での吸収強度は E-2 のそれよりも 2 倍以上大であった。これらのことから E-1 には芳香環と共役したエチレン結合およびカルボニル基の両者が E-2 よりも多量に含有され、特にカルボニル基は約 2 倍多量に存在するものと思われた。また E-2 にはエチレン結合はあまりなく、 α -カルボニル基が主として存在することが示唆された。

このように ΔE_r スペクトルにおける 300 nm の吸光値の増加はフェノール含量の増加と相関がある。これはエタノリシスによってフェノール性水酸基と α -カルボニル基の生成が同時に起こったことを示している。化学当量論的にもエタノリシスによってフェノール性水酸基 1 個の増加につき、約 1.1 個の α -カルボニル基が生ずることが確かめられている (Sarkanen and Schuerch, 1957)。 α -カルボニル基の形成は 300 nm における紫外吸収スペクトルの変化をよく説明しうが、250 nm 附近でのピークの増加については説明できない。一般に 250 nm の吸収ピークはエタノリシス反応の時間とともに増加するが、300 nm の変化は反応の後期には非常にわずかであり、反応の後期にはフェノールの生成はほとんどないと思われる。したがって、250 nm での吸光値の増加はフェノールの生成とは異なった別の原因、すなわちエチレン結合の生成など、によると思われる。

このようにアルコリシスの過程において、フェノール基と結合した置換基が脱離して遊離および α -カルボニル基と共役したフェノールが生成するが、その種類および量は ΔE_i スペクトルにより求めることができる。遊離およびエーテル化されたフェノール性水酸基はリグニンの 280 nm 近傍の吸収極大に顕著に寄与する。Pew (1950) によれば、非共役グアヤシルおよび 3,4-ジメトキシフェニル誘導体はいずれも 277 nm

ら 282 nm の狭い波長領域に極大吸収をもつ。中性溶液中では遊離およびエーテル化フェノールのスペクトルはほぼ等しいが、アルカリ溶液中では遊離フェノールをもった化合物の吸収帯はその水酸基の解離のために長波長側に移動する。

Aulin-Erdman (1953) も数種のリグニン標品やモデル化合物について同様な吸収の赤色移動をしらべている。それによるとリグニン中ではエーテル化された非解離性のフェノールに対して遊離のフェノール量は相対的に少量であるため、リグニン全体のスペクトルにおよぼす後者の影響は弱い。しかし非解離性フェノールはアルカリ溶液中でもその吸収が変化しないので、アルカリ溶液中でのスペクトルから中性溶液中でのそれを差し引くことによって非解離性フェノールの影響を除去することができる。こうして得られる差スペクトル (ΔEi スペクトル) は遊離フェノールの吸収のみを示すことになる。

E-1, E-2, UL-1 および UL-2 についても種々のリグニンの場合にみられるように 250 および 300 nm 附近に極大値をもつ ΔEi スペクトルが得られた

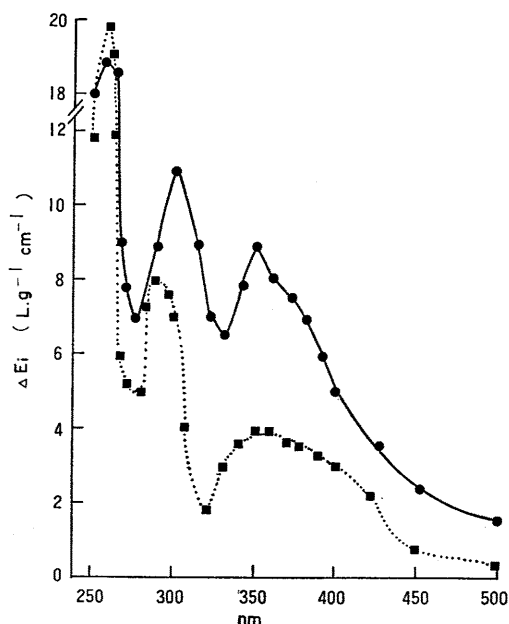


Fig. 5. Ionization- ΔEi spectra of E-1 (●—●) and E-2 (■····■). The difference spectrum was determined by measuring the absorbance of the alkaline solution relative to that of the neutralized solution. The spectra were plotted in terms of absorptivity ($L \cdot g^{-1} \cdot cm^{-1}$) obtained by dividing the absorbance readings by the concentration of the diluted solutions in $g \cdot s \cdot L^{-1}$.

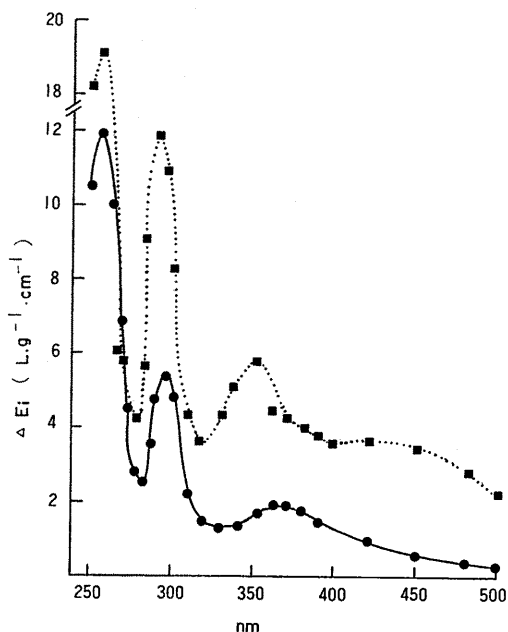


Fig. 6. Ionization- ΔEi spectra of UL-1 (●—●) and UL-2 (■····■). The difference spectrum was determined by the same method described in Fig. 5.

(Figs. 5, 6). これらの極大値は、それが現われる波長領域ならびに相対的吸収強度の点から、アルカリ性でその水酸基が解離して長波長移動を示すグアヤシルプロパンなどのリグニンモデル化合物における primary および secondary band にそれぞれ相当する (Aulin-Erdman, 1954). 上記 4 種の製剤の ΔEi スペクトルには、これら 2 種の極大値に加えてさらに 350 nm 附近に極大値が存在した。この領域の極大値はモデル化合物の ΔEi スペクトルから α -カルボニル基と共役したフェノール性水酸基、エチレン結合あるいはビフェニル構造に由来することが知られている (Aulin-Erdman, 1953). 特に共役 α -カルボニル基はその分子吸光係数が高いため (ϵ : 24,000), ΔEi スペクトルの 350 nm の極大値に主として寄与している。これらの結果を用いて、 ΔEi スペクトル中の特定波長の吸収強度を測定することによってリグニン中の共役および遊離フェノールの含量を求めることができる。すなわち、350 nm におけるピーク (ΔEi 350) は α -カルボニル基と共役したフェノール量に、300 nm でのピークは遊離フェノールの量に比例している。これらのことを考慮して、遊離フェノール量は Goldschmid (1954) の方法により、また共役フェノール量は Adler und Marton (1959) の方法により

算出した。また未処理 LSA, およびこれをゲル濾過によって分別して得られた UL-1, UL-2 についても同様の計算を行ない Table 1 に一括して掲げた。

Table 1. Free and α -carbonyl conjugated phenol contents in the preparations.

	Free	α -Carbonyl conjugated
E-1	0.082	0.015
E-2	0.060	0.007
UL-1	0.040	0.003
UL-2	0.093	0.009
Untreated LSA	0.039	0.003

Units: moles/OCH₃

LSA のエタノリシスの結果得られた E-1, E-2 には両種のフェノール性水酸基が明らかに増加した。本処理によって LSA 中のエーテル結合が解裂して遊離フェノールあるいは α -カルボニル基が生成したことがわかる。E-1, E-2 において両種のフェノール含量は必ずしも等しくはなく、遊離フェノールについては E-1 が E-2 よりも約 40% 多いのに対し、共役フェノール量は前者が 2 倍以上多い。これらの結果は前述の Δ Er スペクトルからの推定とよく一致する。エタノリシスの進行とともに α -カルボニル基と共役したフェノールは漸増し、遊離フェノールは反応初期に急増して、以後 α -位の炭素のカルボニル化が進行するにつれて減少する。著者らの実験条件(10 時間加熱)は Sarkanen and Schuerch (1957) によると、遊離フェノールは最大量、共役フェノールは約 60% が生成する条件に相当していると推定される。

UL-1 に含まれる 2 種のフェノール含量は未処理 LSA のそれにほぼ等しい。ゲル濾過パターンからみると LSA は広い分子量分布を示すが、そのフェノール含量が UL-1 のそれとよく一致することから大部分の分子種は化学的に UL-1 に類似した構造を有していることが推定される。ゲルカラムクロマトグラフィーによって UL-2 は低分子領域に特異なピークとなって現われる。このもののフェノール含量は UL-1 のそれより著しく大であった。UL-2 の遊離フェノール量は E-1 のそれに匹敵し、 α -カルボニル基と共役したものについては 60% に達した。これらのことは、蒸解によって木材中の高分子リグニンから LSA が製造される過程において、高分子リグニンが無秩序に低分子化されて UL-2 が得られたのではないことを示唆している。

3. 腫瘍抑制能の検定

常法(村上ら, 1974)により、エタノリシスによって得られた E-1, E-2 および未処理 LSA をゲル濾過して分別された UL-1, UL-2 の抗腫瘍能を sarcoma 180 を用いて検定した。

a. E-1, E-2 の抗腫瘍試験

これらの製剤を 50 mg/kg 体重の割合で腫瘍移植翌日から隔日計 5 回腹腔内に投与した。対照担がんマウスおよび製剤投与区マウスの腫瘍移植後の生存状態とそれらの平均体重の変化を Fig. 7 に示す。対照区の動物の生存数は 13 日目以降ほぼ直線的に減少して 25 日目にはすべてが腫瘍により斃死した。E-1 投与区では 21~24 日にかけて 10 頭中 4 頭が腫瘍死した。残存する 6 頭には剖検によっても腹腔内に腫瘍細

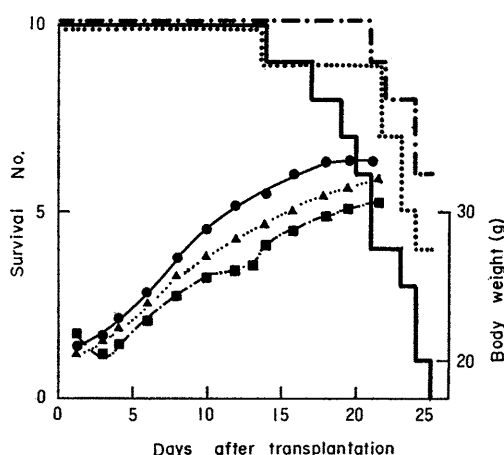


Fig. 7. Effect of E-1 and E-2 on survival numbers and the increase of average body weight in mice. Survival numbers of E-1 injected mice (---○), E-2 injected (.....○) and control (—○). Body weight of E-1 injected (---■), E-2 injected (.....▲) and control (—●).

胞の存在を認めることができなかった。このことはこれらの動物を長期間観察しても、もはや腫瘍死することではなく、すでに完治したことを示唆している(村上ら, 1974)。一方、E-2 投与区では対照区に比して全般的に 3~4 日程度生存日数が延長され、対照区のマウスがすべて腫瘍死したときになお 4 頭が残存していた。しかしこれらの 4 頭はすべて腹水の貯留が著しく、いずれも数日内に死に至るのは確実であると思われる。したがって E-2 にはわずかの延命効果は認められるが、担がん動物を完治させる能力はないことが

わかる。

これら3区の動物の平均体重の変化を観察すると対照区では初期に腹水の急激な貯留によって急速に体重が増加した。後期においては悪液質状態の進行のために腫瘍細胞の増殖力は弱くなり体重もあまり増加しなくなった。本実験におけるこれらの経過は、この種の試験で無処理担がん動物が示す典型的な様相である。E-1 投与区では第1回投与後（腫瘍移植後2日目）に一時的な平均体重の減少がみられた。これはおそらくE-1が若干の毒性を有することによると思われる。しかし、以後投与を継続しても体重の減少は起らずかえって増加した。これは製剤投与にもかかわらず腹水の貯留が進行する一部の個体の影響を受けたためと考えられる。ただし投与開始12日目頃に増加度が一時的に低下しており、これは第1回投与から起算してはば10日目にあたるので、E-1による微弱的抗原抗体反応が起った可能性も考えられるが詳細については明らかでない。E-2投与区では前二者の中間の経過をたどり、E-2が延命効果を有するのみで完治能がないことを反映して、この製剤を投与したマウスの体重は腹水の貯留のために試験終期においてもなお顕著に増加した。

各区の動物の肝臓・脾臓重量を斃死時または試験終了時に摘出して測定するとTable 2のようになる。対照区担がん動物の臓器重量は前報（村上ら、1975）で述べたような腫瘍細胞による栄養奪取が主原因となって減少が著しかった。製剤投与区については、E-1はかなりの抗腫瘍能を示したにもかかわらず、投与動物の肝臓重量は正常マウスのそれにくらべてやや減少していた。この減少度は延命効果のみが認められたE-2の場合とはほぼ同程度であった。

Table 2. Effect of E-1 and E-2 on the weight of liver and spleen of mice.

	Liver (g)	Spleen (g)
Control	1.10±0.27	0.07±0.03*
E-1	1.34±0.30	0.15±0.07
E-2	1.31±0.37	0.13±0.07
Normal	1.63±0.25	0.17±0.02

* mean ± standard deviation

b. UL-1, UL-2 の抗腫瘍試験

これらの製剤 50 mg/kg 体重をE-1, E-2の場合と同様に与えて試験した。その結果をFig. 8に掲げる。対照区担がんマウスは従来の試験と同じく12～24日の間に全て腫瘍死した。UL-1投与区では19日目まで対照区とはほぼ同様に経過したが、以後は1頭が

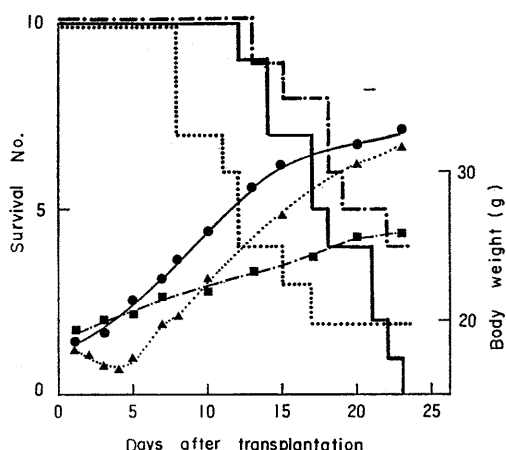


Fig. 8. Effect of UL-1 and UL-2 on survival numbers and the increase of average body weight in mice. Survival numbers of UL-1 injected mice (—○—), UL-2 injected (·····○·····) and control (—●—). Body weight of UL-1 injected (—■—) and control (—●—).

腫瘍死したのみであった。したがって試験終了時には10頭中4頭が生存しており、これらの腹腔中には腫瘍細胞はもはや検出できなかった。一方、UL-2投与区のマウスは7日目に3頭が斃死した。このような腫瘍移植初期でも腫瘍細胞の増殖は著しく、すでに腹水の貯留を外観的に認めることができる。しかし、この程度の腫瘍細胞の増殖が死の直接原因となることは一般に考え難い。さらに、この時期の担がん動物は腹水の貯留がみられること以外には外見的には健全な個体と大きな相違はない。一般的に腫瘍細胞の増殖それ自体が必ずしも死の直接原因ではなく、その急激な増殖による栄養分の収奪などによってもたらされる悪液質状態の進行が致死的要因となる。この点からすれば腫瘍細胞が急速に増殖してもそれに相当だけの栄養補給が可能な個体においては長期間の延命が可能であり、実際このような現象は従来の動物試験においてもあるいは人がんなどにおいても散見されるところである。いずれにしてもUL-2投与によって早期に斃死した個体は外見的な全身症状が良好なこと、さらにはこの種の実験腫瘍は通常短期間では致死能力をもちえないことなどからその斃死原因は腫瘍によるものではなく、投与製剤の毒性によるものであらうと考えられる。これら以外のUL-2投与マウスは以後、漸次腫瘍死し、試験終了時には2頭のみが残存していた。これらの個体にも腫瘍細胞の増殖に伴う全身症状の悪化が明らかで数日のうちに斃死することが予想された。

体重増加の面からこれら2種の製剤の影響を観察すると、UL-1投与区では体重の増加度が非常に低いことが注目される。これは正常マウスの生長曲線(村上ら, 1974)にくらべ、本製剤の投与によって体重の増加が阻害されていることを示すものである。またUL-2投与区では4日目までは平均体重が減少しており、上述のように本剤投与が原因と考えられる斃死個体が認められたことをあわせて考慮すると、本剤がマウスに対して毒性を有することが示唆される。著者らはすでにこの毒性がUL-2中のリグニン部分に由来するものではなく、共存する別種の物質であることを確かめている。

UL-1, UL-2投与区の動物の肝臓、脾臓重量を対照区のそれと比較するとTable 3のようになる。両処理区の肝臓重量は対照区のそれよりもやや大きい程度であった。UL-2投与区の脾臓重量が対照区のそれと同程度に減少していることが注目され、本製剤中に混在すると思われる有毒成分が脾臓に強い影響をおよぼすことがわかる。

Table 3. Effect of UL-1 and UL-2 on the weight of liver and spleen of mice.

	Liver (g)	Spleen (g)
Control	1.04±0.14	0.06±0.02*
UL-1	1.24±0.52	0.14±0.04
UL-2	1.36±0.43	0.07±0.03

* mean ± standard deviation

考 察

LSAはエタノリスに対して複雑な挙動を示し、種々の分解産物の生成ならびに化学構造上の変化をおこす。そのうち、エーテル可溶性部分に含まれる物質についてはHewson *et al.* (1941)の研究をはじめとして多くの知見が得られている。エタノリスに付随する分解反応に抵抗性を示すリグニン中の構成物の性質については不明の点が多いが、本反応によってエーテル不溶部分には遊離あるいはカルボニル基と共役したフェノールの生成のほかにエトキシル、あるいはメチル基の導入が起る(Hewson *et al.*, 1941)。さらにはこのエーテル不溶部分を直接酸化したときにベンゼンテトラおよびペンタカルボン酸を与え、あるいはメチル化後に酸化するとm-ヘミピン酸を生ずるような部分構造が生成する(Sarkanen and Schuerch, 1957)。またこのエタノリスによってリグニンの分解(Hewson and Hibbert, 1943)や紫外吸収の変化(Patterson and Hibbert, 1943)も定性的に検出

されている。

このようなエーテル不溶部分、すなわちエタノールLSAをその分子量の大小によってE-1, E-2の2成分に大別し、これらの腹水型sarcoma 180に対する腫瘍抑制作用を検定した。E-1は亜二チオン酸ナトリウム処理によって得られたR-1(村上・村上, 1975)ほどではなかったけれども顕著な効果を有しており、供試動物の60%に腹水の貯留が認められなくなり、完治したと判断された。しかしE-2にはわずかに延命効果があったのみで治癒能力はなかった。さらにこのものは若干の毒性を示すようで、本製剤を投与したマウスの体重は投与初期および中期に減少ないし、増加度の停滞がみられた。また脾臓重量は正常動物のそれとほとんど差がなかったが肝臓重量は減少しているようであった。E-1, E-2はこのような抗腫瘍能に関して顕著な差があり、両者の性質はその分子量の大小のほかに、E-1がE-2よりもフェノール性水酸基量が多いという相違をもっていた。

一方、未処理LSAを分別して得られたUL-1, UL-2についてもより高分子であるUL-1にかなりの治癒能力があった。しかしこれを投与した動物の体重増加度は明らかに正常動物のそれには及ばなかった。また、UL-2には治癒能力がないばかりでなく毒性をも有するようであった。これらの製剤のフェノール含量はUL-2がUL-1よりも2倍以上多かった。しかもUL-1のそれは全く延命効果のないE-2にくらべても50%程度低く、未処理LSA中の含量に等しかった。これらの結果はリグニン製剤の抗腫瘍能の発現には高分子量のものが有効であり、そのフェノール基含量は無関係であると思わせる。しかし前述のごとく、UL-2の毒性はそのリグニン部分にあるのではなく、これに混在する他の物質によるものであることはすでに観察されている。さらにこの混在する毒性物質を除去したUL-2は顕著な抗腫瘍能を有することも確認されている。これらのことから、LSAの抗腫瘍能発現のためにはその高分子量は必ずしも重要ではないと思われる。

もちろん、製剤中のフェノール基の存在量と抗腫瘍能との間には平行関係があるわけではない。すなわち、UL-1よりもE-2の方がフェノール含量は高いにもかかわらず、効果は殆んど認められなかった。また亜二チオン酸ナトリウムによって還元して得られたR-1は著効を示したけれども(村上・村上, 1975)、そのフェノール含量は、遊離フェノール量がUL-1よりも0.2%程度多いのみであった。しかし、毒性物

質を除去した UL-2 が高い抗腫瘍能を有するので、フェノール基は抗腫瘍発現のための作用基ではないけれども、多量のフェノール基の存在は製剤中の未知の作用基の抗腫瘍能を増強するものであると考えられる。

LSA に各種の化学反応を施して得られた産物の抗腫瘍性官能基の性質はいまだ明らかではないが、エタノリシスによっても LSA よりすぐれた抗腫瘍物質を得ることができた。

要 約

LSA のエタノリシスによって得られるエーテル不溶部、すなわちエタノール LSA の抗腫瘍能を検定した。さらにその作用に関する化学構造について 2 種類に分別した LSA と対比しながら考察を加えた。

1. エタノール LSA をゲル濾過によって分別すると、その分子量に従って 3 成分が得られた。そのうち分子量の大きい 2 成分について抗腫瘍能を検定したところ、より分子量の大きい E-1 に LSA よりもすぐれた効果が認められ、E-2 には効果は認められなかった。

2. LSA をゲル濾過して得られる UL-1, UL-2 の 2 成分のうち、その抗腫瘍能はより高分子量の UL-1 にのみ認められた。しかしこれは UL-2 に有効成分が含有されていないことを示すものではないと考えられる。

3. 上記 4 種の成分の各種フェノール含量を比較してもそれらの抗腫瘍能との間には平行関係は認められなかった。しかし、効果の増強に関与していることが推定された。

文 献

- Adler, E. und J. Marton 1959 Zur Kenntnis der Carbonylgruppen im Lignin 1. *Acta Chem. Scand.*, 13(1): 75-96
 Aulin-Erdman, G. 1953 Spectrographic contributions to lignin chemistry IV. Method for the elucidation and estimation of phenolic elements. *Svensk Papperstidn.*, 56(8): 287-

291

- Aulin-Erdman, G. 1954 Spectrographic contributions to lignin chemistry V. Phenolic groups in spruce lignin. *Svensk Papperstidn.*, 57(20): 745-760
 Goldschmid, O. 1954 Determination of phenolic hydroxyl content of lignin preparations by ultraviolet spectrophotometry. *Anal. Chem.*, 26(9): 1421-1423
 八浜義和 1960 リグニン. 小竹無二雄監修: 大有機化学, 第 19 巻. 朝倉書店, 東京, 294 頁
 Herbert, G. A., K. Sarkanen and C. Schuerch 1956 Lignin structure VIII. Characterization of ethanol spruce lignin prepared by a new method. *J. Am. Chem. Soc.*, 78(5): 1904-1906
 Hewson, W. B., J. L. McCarthy and H. Hibbert 1941 Studies on lignin and related compounds LVII. Mechanism of ethanolysis reaction. *J. Am. Chem. Soc.*, 63(11): 3041-3048
 Hewson, W. B. and H. Hibbert 1943 Studies on lignin and related compounds LXV. Re-ethanolysis of isolated lignins. *J. Am. Chem. Soc.*, 65(5): 1173-1176
 村上浩紀・落合千津子・大村浩久 1974 食糧成分中のリグニンの抗腫瘍機構 (2). 木材パルプ製造時に副生する各種リグニン製剤の抗腫瘍作用. 九大農学芸誌, 28(4): 215-221
 村上浩紀・村上 進・大村浩久 1975 ニトロ化リグニンスルホン酸の腫瘍抑制作用. 九大農学芸誌, 29(4): 179-186
 村上浩紀・村上 進 1975 亜二チオン酸処理リグニンスルホン酸の腫瘍抑制作用. 九大農学芸誌, 30(1-2): 87-94
 Patterson, R. F. and H. Hibbert 1943 Studies on lignin and related compounds LXXIII. The ultraviolet absorption spectra of ethanol lignins. *J. Am. Chem. Soc.*, 65(10): 1869-1873
 Pew, J. C. 1950 Oxidative degradation of methylated lignin preparations. *J. Org. Chem.*, 15(4): 644-648
 Sarkanen, K. and C. Schuerch 1957 Lignin structure XI. A quantitative study of the alcoholysis of lignin. *J. Am. Chem. Soc.*, 79(8): 4203-4209

Summary

Antitumor potency of fractionated ethanol lignosulfonates was investigated. On the active chemical functional group(s) of the sulfonates, discussion was made comparing with two fractionated LSA.

1. By gel-filtration of ethanol LSA, three components were obtained according to their molecular weights. Two of the higher molecular components were tested for their antitumor potencies. Higher molecular E-1 was more effective than untreated

LSA, while E-2 had little activity.

2. Between UL-1 and UL-2, which were fractionated by gel-filtration of LSA, higher molecular UL-1 was not so effective as E-1. UL-2 could not hamper the proliferation of tumor cells. It does not necessarily indicate that UL-2 fraction never contains antitumor ethanol LSA. We have verified that UL-2 shows a remarkable antitumor potency by elimination of toxic substances contaminated.

3. Phenol contents of these four preparations did not correlate with their antitumor potencies. These phenolic groups were assumed to enrich the activity, because the preparations which highly contained the phenols were never inert.