

氏 名 (本籍)	こ いけ ゆたか 小 池 隆
学 位 の 種 類	薬 学 博 士
学 位 記 番 号	薬 博 第 140 号
学 位 授 与 年 月 日	昭 和 59 年 3 月 27 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研 究 科 専 門 課 程	東 北 大 学 大 学 院 薬 学 研 究 科 (博 士 課 程) 薬 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	オオワライタケの成分研究

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 野 副 重 男 教 授 曳 野 宏

教 授 高 野 誠 一

論文内容要旨

Psilocybinおよびその関連物質は、キノコに含まれる幻覚性物質として知られており、Psilocybe属のキノコをはじめ多くの幻覚性キノコより単離あるいは検出されている。

著者は、日本産幻覚性キノコの成分研究を企画し、これまでヒカゲシビレタケ (*Psilocybe argentipes*, K. YOKOYAMA) から psilocybin を単離同定した。また、その定量法を確立し、シビレタケ (*Psilocybe venenata* IMAZ. et HONGO), アイセンボンタケ (*Psilocybe fasciata* HONGO), センボンサイギョウガサ (*Panaeolus subbalteatus* SACC.) などから psilocybin を検出した。しかし、苦味を有し、幻覚を起こすことが知られているオオワライタケ (*Gymnopilus spectabilis* (Fr.) A. H. SMITH) からは psilocybin は検出されなかった。本菌の中毒症状は、悪心や嘔吐などの不快感はなく psilocybin などによる中毒症状とは異なっているように思われる。従って、その幻覚性は psilocybin 以外の成分によるものと考えに至った。

そこで、著者は、日本産幻覚性キノコの成分研究の一環としてオオワライタケをとり上げ、苦味または Ehlich 試薬陽性の成分を中心に天然子実体の成分検索から始めた。

山形県小国町で採取したオオワライタケの MeOH 抽出エキスを AcOEt と水で分配し、AcOEt 層より ergosterol, ergosterol peroxide とともにステロイド (1) を得た。また、水層は Amberlite XAD-2 に通導し、吸着部を MeOH で溶出し、ポリイソプレンポリオール (PIP) 含有画分を得た。

一方、同地で採取したオオワライタケの熱水抽出エキスの AcOEt 可溶部よりアセチレン系化合物 (2) を得た。水層からは、前述の如く処理して PIP 含有画分を得た。

化合物 1 および 2 の収量は微量であるため構造決定には至らなかった。そこで、オオワライタケの培養を行ない、菌糸の培養に成功し、培養菌体と培養濾液に分けて成分検索を行なった。

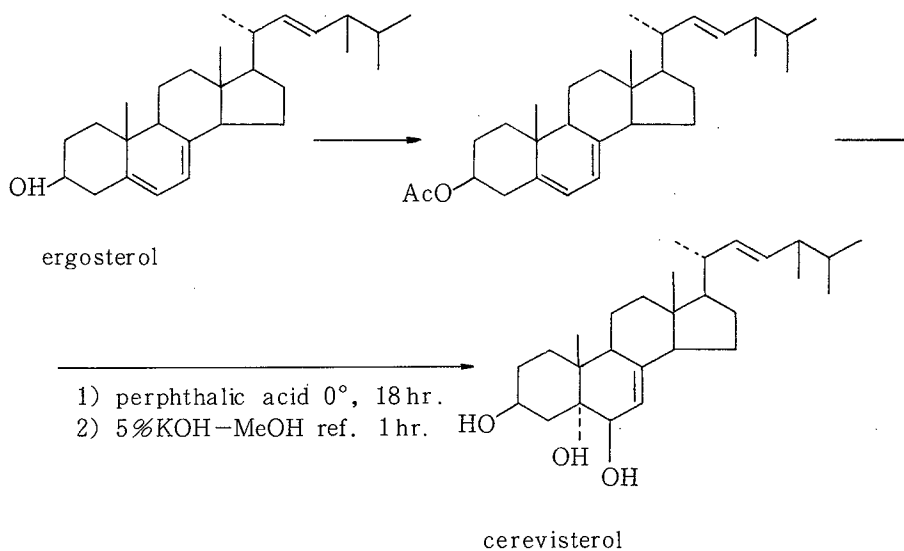
培養菌体は MeOH で冷浸し、MeOH エキスの AcOEt 可溶部から ergosterol, ergosterol peroxide および化合物 1 を得た。水層からは、Amberlite XAD-2 吸着部より PIP 含有画分を得た。

一方、培養濾液は Amberlite XAD-2 に通導し吸着部を MeOH で溶出させ PIP 含有画分を得た。通過部は、AcOEt で連続抽出し化合物 2 を得た。

このことから、培養菌体および濾液には子実体と同一の成分が含まれていることがわかったので、培養より得た化合物 1 および 2 を用いて、その構造を検索した。

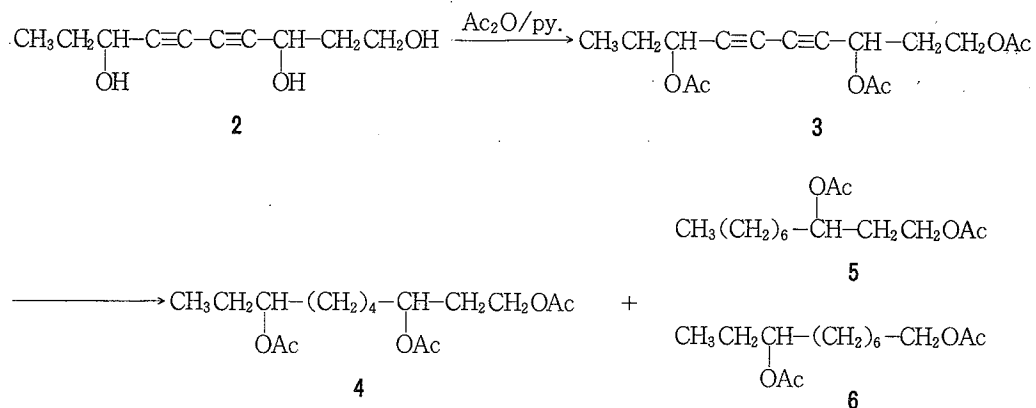
化合物 1 は mp 251 ~ 253°, C₂₈H₄₆O₃ を有し、各種機器データの解析および化学変換反応生成物の機器データの解析から cerevisterol と推定した。そこで、Scheme 1 に示す様に ergosterol より cerevisterol を合成し 1 と比較したところ、PMR スペクトル、マススペクトルが一致し、

混融試験で融点降下を認めないことから、**1**を cerevisterol と結論した。



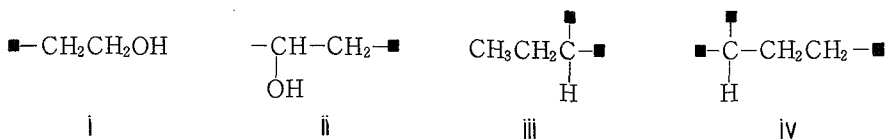
Scheme 1

化合物 **2**, bp 0.4 mmHg 122°, C₁₀H₁₄O₃ は、文献未記載の化合物で油状物として得られる。IR スペクトルから水酸基の存在が示唆され、アセチル化によりトリアセテート (**3**) を与えた。さらに、**3** を接触還元すると 8-水酸化体 (**4**) と 3 位あるいは 8 位の -OAc 基が水素加分解をうけた還元体 (**5** または **6**) を得た。(Scheme 2)



Scheme 2

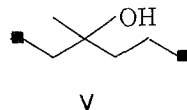
化合物 **2** および化学変換反応生成物の機器データの解析から、**i** ~ **iv** の部分式の存在が推定でき、これらのことから、**2** の構造を 4,6-decadiyne-1,3,8-triol と結論した。



ポリイソプレンポリオール (PIP) は、MeOH、THFなどに可溶性油状物として得られ、さらに、その中にオオワライタケの苦味成分が含まれている。PIPは、TLCなどの挙動から混合物であると思われたので、各成分の単離を目的として、まず抽出、精製法の検討を試みた。その結果、オオワライタケの乾燥子実体のMeOH抽出エキスのAcOEt可溶部より、主成分としてPIP含有画分を得た。これを逆相系のHPLC(Lichroprep RP-8, MeOH-H₂O (80:20V/V%))に付し、gymnopilin (2)と命名した苦味物質およびgymnoprenol-A (8), -B (9), -C (10)と命名したその関連物質を得た。

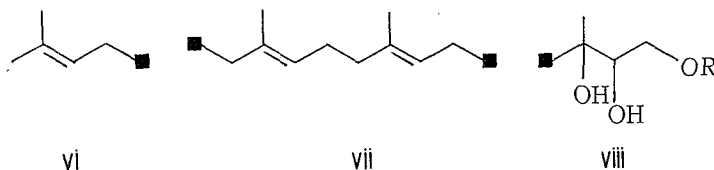
7~10は、400M PMRスペクトルにおいて、1.14 ppmに水酸基の結合した四級炭素上のメチル基による一重線と1.41 ppmにメチレンによる幅広い一重線が、積分比ほぼ1:2として認められる。また、それらのCMRスペクトルにおいて、73.5 ppmに水酸基の結合した四級炭素、43.5 ppm, 19.4 ppmにメチレン炭素、27.0 ppmに水酸基の結合した四級炭素上のメチル基による大きなシグナルがあり、それらのうち43.5 ppmと19.4 ppmの強度比が2:1になっていることがわかる。これらのことから、7~10には、水和されたイソプレン骨格(V)の繰り返し構造が共通の基本骨格となっていることが推定された。

また、gymnoprenol-A (8)はFAB-MSにおいて、m/e 777, 863に(M+Na)⁺を示し、C₄₅H₈₆O₈とC₅₀H₉₆O₉の2種の混合物であると推定した。その結果、7~10はイソプレン単



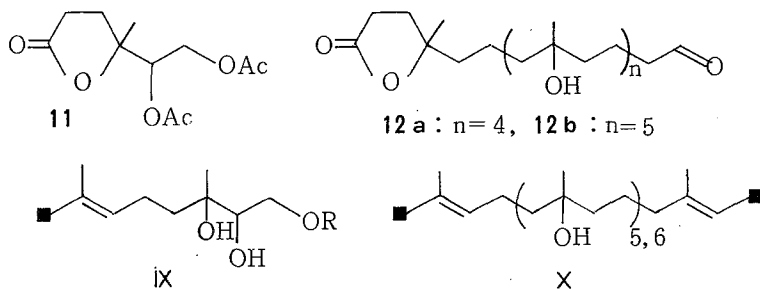
位が9~10個からなる化合物の混合物であると思われたが、逆相TLC, HPLC上では、それぞれ均一な挙動を示すので、そのまま構造解析を行なった。

Gymnopilin (7)はCMRスペクトルで、172.9 ppm (-O $\overset{\text{O}}{\parallel}$ C-), 178.8 ppm (-COOH)のシグナルが認められ、またアルカリ加水分解するとgymnoprenol-A (8)を与えることから、7は8のエステル体であることが示唆された。さらに、7と8の詳細なPMR, CMRスペクトルの解析から、部分構造vi~viiiを提出した。

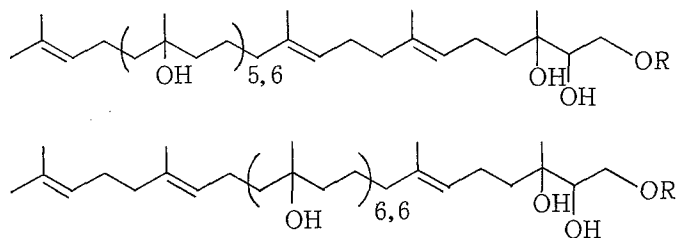


二重結合の位置およびエステル部分の構造については、分解反応により決定した。まず、

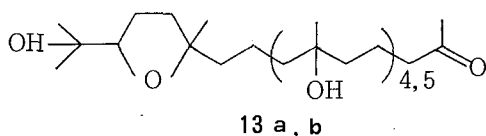
gymnoprenol-A (8) をアセチル化後, OsO₄酸化, NaIO₄酸化に付し, 得られるヘミアセタールを Jones 酸化しラクトン体 11 および 12 a, b を得た。ラクトン体の構造は, 各種機器データの解析により決定した。11 および 12 a, b が得られたことから, gymnopilin (7), gymnoprenol-A (8) に対して, 部分構造 IX, X を提出した。



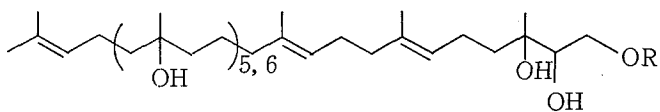
以上のことから, gymnopilin (7), gymnoprenol-A (8) に対して2つの平面構造式を提



出できる。そこで 8 を NBS 酸化しイソプロピリデン部にブロモヒドリンを生成後, アルカリ処理しアセチル化後, OsO₄酸化, NaIO₄酸化を行ない 13 a, b を得た。

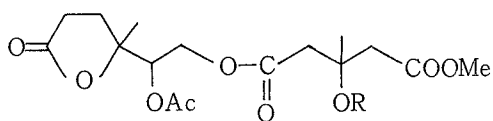


その結果, 二重結合の位置を下式の如く決定した。

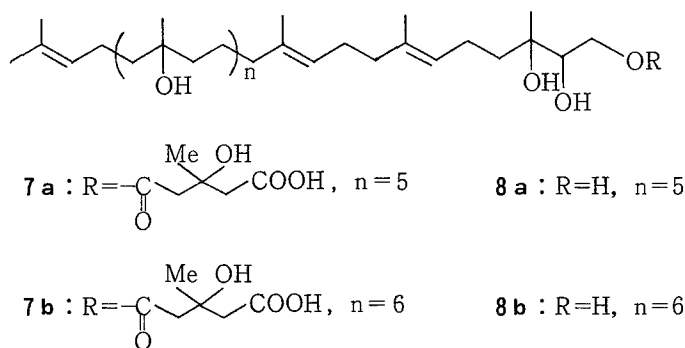


エステル部の構造については, 次の様にして決めた。すなわち, gymnopilin (7) をメチル化後, アセチル化し, 前述の様にして OsO₄酸化, NaIO₄酸化を行ない得られるヘミアセタールを Jones 酸化しラクトン 14 および 15 を得た。14, 15 の構造は, 各種機器データにより確認した。従って, gymnopilin (7) のエステル部は, 3-hydroxy-3-methyl-glutaric acid である

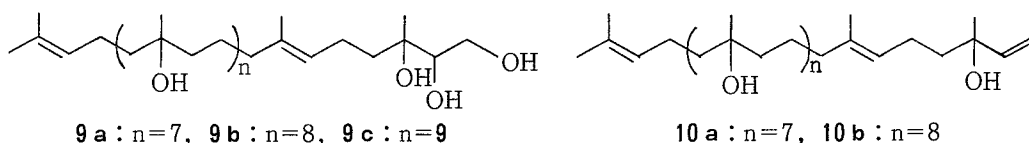
と結論した。



以上のことから, gymnopilin (7), gymnoprenol-A (8) の平面構造は, 7a, 7b および 8a, 8b 式で表わされると結論した。

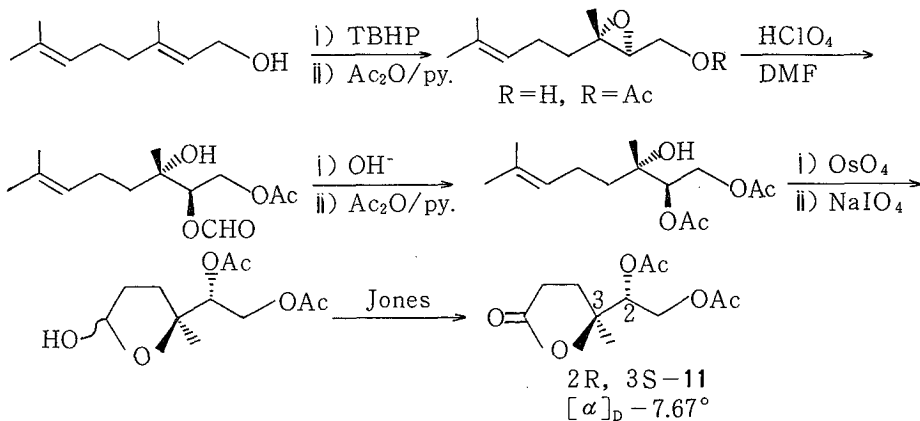


Gymnoprenol-B (9), Gymnoprenol-C (10) についても, PMR, CMR スペクトルの詳細な検討, また gymnoprenol-A (8) と同様の化学変換反応を行ない, gymnoprenol-B₁₀, -B₁₁, -B₁₂ および gymnoprenol-C₁₀, C₁₁ の平面構造はそれぞれ 9a, 9b, 9c, 10a, 10b, で表わされると結論した。

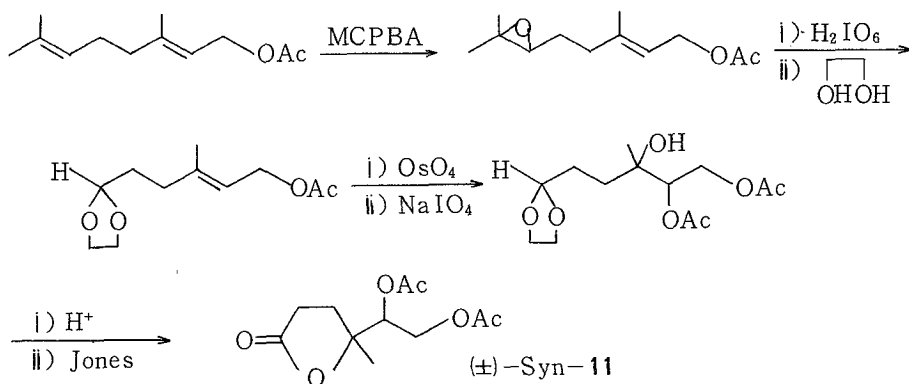


次に gymnoprenol および gymnopilin の立体構造について検討した。前述した様に, gymnoprenol は化学変換反応よりラクトン 11 および 12 を与える。まず, ラクトン 11 を合成し比較することにより, 末端トリオール構造の立体構造について検討を試みた。すなわち, E-geraniol より Scheme 3 に示す経路で 2R, 3S-11 を, Scheme 4 に示す経路で(±)-syn-11 を合成した。

2R, 3S-11 および(±)-syn-11 を 11 と比較したところ, 2R, 3S-11 が gymnoprenol より誘導した 11 と PMR, CMR スペクトルが一致した。さらに, 旋光度が 2R, 3S-11 は -7.67° , 11 は $+8.75^\circ$ であることから, 11 の立体構造は 2S, 3R であると結論した。従って, gymno-

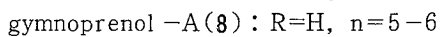
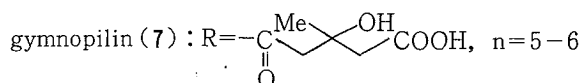
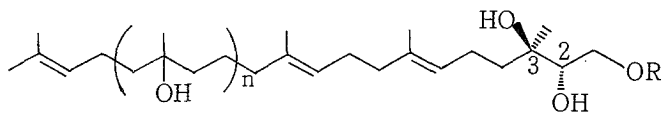


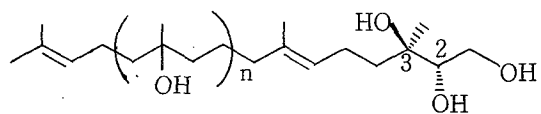
Scheme 3



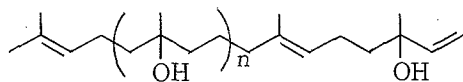
Scheme 4

prenolの末端トリオール部に関して2S, 3Rであると結論した。その他の立体化学については現在検討中である。





gymnoprenol - B (9) : $n=7-9$



gymnoprenol - C (10) : $n=7-8$

Gymnopilin および gymnoprenol 類は、数個の水和されたイソプレン骨格からなるこれまでにない新しいものである。水合され親水性を増した化合物にひそめられた生理作用や生合成の点で興味を持たれる。

本研究では、オオワライタケの幻覚成分を明らかにすることはできなかったが、psilocybin の定量分析から、幻覚は psilocybin 以外によるものと考えられる。その毒性の本体を明らかにすることが今後の課題である。

審査結果の要旨

本論文は、幻覚性キノコ中に含まれる幻覚物質の研究の一環として、オオワライタケ (*Gymnopilus spectabilis*) の成分研究を行ったものである。まず、通常幻覚物質として存在するシロシビン及び関連物質の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による定量法を確立し、他の幻覚性キノコと同時にオオワライタケ中のシロシビンの分析を行った結果、全く含まれていないことを明らかにした。次に、このキノコ子実体に特有な苦味成分の単離を行うべく、抽出法、精製法の検討を試みた。その結果、天然子実体より cerevisterol, 新規化合物 4, 6 - decadiyne-1, 3, 8 - triol を単離するとともに、MeOH抽出エキスの主成分として、新しい型のポリイソプレンポリオールを得た。更に、この中に苦味成分が含まれていることがわかったので、各種クロマトの後に逆相系HPLC (Lichroprep RP-8) による各成分の単離を行い、苦味成分を *gymnopilin*, その他の関連成分を *gymnoprenol-A₉₋₁₀*, *gymnoprenol-B₁₀₋₁₂*, 及び *gymnoprenol-C₁₀₋₁₁* と命名し、これらの PMR, CMR スペクトルを詳細に検討するとともに、各種分解反応を行い、生成物の PMR, Mass スペクトルの解析結果などを総合して、それらの平面構造を明らかにした。

gymnoprenol 類は、炭素数45~60から成る化合物で、イソプレンホモログの混合物として存在している。また、水和されたイソプレン構造を共通の基本骨格として含み、更に、三置換二重結合を2~3個有する化合物である。

さて、*gymnoprenol* 類の立体構造についても検討した。すなわち、*gymnoprenol* 類の末端トリオール構造に由来する分解生成物を、E-geraniol より立体選択的に合成し、各種スペクトルデータ及び旋光度を比較することにより末端トリオールに関して2S, 3Rと決定した。

以上、本論文は、オオワライタケより、天然有機化合物としては未だ例を見ないポリイソプレンポリオール体及び、苦味成分としてポリオールエステル体を単離し、その立体化学、絶対配置を含めて、構造を決定したものであり、且つ、従来の不飽和結合を有するポリイソプレン鎖の水和酵素に関する研究、水和化の機構に関する研究及び、水溶性イソプレンの生理活性及び利用への道を開くものでもあり、博士論文として充分価値のあるものと判断される。