

P1-060

メイラード反応により生成する変異原物質の探索

長野一也¹、糠谷東雄¹、辻邦郎¹、榎本茂樹²、高村岳樹²、若林敬二²
¹静岡県大・薬、²国立がんセンター・研

Search of mutagens in Maillard reactants

Nagano Kazuya¹, Nukaya Haruo¹, Tsuji Kuniro¹, Enomoto Shigeki², Takamura Takeji²,
 and Wakabayashi Keiji²

¹School of pharm., Univ. of Shizuoka, ²Natl. Cancer Center. Res. Inst.

【目的】

アミノ酸と還元糖の非酵素的化学反応（メイラード反応）は食品の長期保存中はもとより、生体内でも起こることが知られている。特に糖尿病になると反応レベルが上昇し、種々の糖尿病合併症に加え、各種癌の発生頻度との関係が言われている。このことから、生体内においてもメイラード反応由来の変異原物質が生成しているのではないかと考え、生体内メイラード反応モデル系で生成する変異原物質を探索し、構造の解明を試みた。

【方法】

25 mM glucose と 50 mM アミノ酸 20 種をそれぞれ、pH 7.4 に調製した 0.5 M リン酸緩衝液中、37°C で一週間反応させた。その結果、glucose と tryptophan の系で、サルモネラ菌 Y G 1024 (+ S9 mix) に対して 170 rev./5 μ mol amino acid を示し、他のアミノ酸の系に比べ 10 倍程の活性であった。この tryptophan の系で生成する変異原物質の探索途上、1-(indole-3-carbonyl)- β -carboline-3-carboxylic acid と indolo[2,1-b]quinazoline-6,12-dione が単離された。これらには変異原性はなかったが、その構造から、この反応系には 3-indolylglyoxal と isatin 或いは anthranilic acid が存在しており、これらを中間体として、両化合物が生成したと推定された。そこで、これらの反応性の高い中間体を経由して生成する変異原物質の存在を予想して、その検討を

行うことにした。

先ず、isatin 20 mM と各種アミノ酸 40 mM をそれぞれ、25 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4) 中、37 °C で一ヶ月間反応させた。その結果、種々のアミノ酸で、glucose とアミノ酸の反応系より強い変異原性を認めた。とりわけ lysine の系では、450 rev./5 μ mol amino acid と最も高い変異原性を示した。そこで、この反応系で生成する変異原物質を明らかにすることとし、isatin と lysine をモル比 1:2 で、スケールアップして反応させ、その反応溶液をブルーコットン処理し、水洗後、吸着物をメタノール及びメタノール・アンモニア (50:1) 混液で抽出した。ブルーコットンの吸着部、非吸着部は共に変異原性を認めたが、まず吸着部を研究対象とし、この抽出物から変異原物質の分離を試みた。

【結果及び考察】

上記の抽出物を Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー及び ODS カラムを用いた HPLC により分離精製し、変異原物質 (Compound 1) を単離した。Compound 1 の UV スペクトルは 209、270 及び 328nm に極大吸収を示し、多環性化合物であると推定された。また、H-NMR や H-H COSY から、芳香族プロトン及び窒素に結合したプロトンの存在や、メチレン基が 3 つ連続した部分構造も推定された。構造解析も含めて、この変異原物質について言及する。