

1-6 化学科研究活動報告

- 学 科 化学科
- 学科専任教員 飯田 隆 (教授)
為我井秀行 (准教授)
小川祥二郎 (助手A)

【研究の概要および結果】

- 1. 研究の目的及び概要** 魚類の胆汁塩に関する研究は、一部の硬骨魚類からのC₂₇胆汁アルコールやC₂₄ Haemulcholic acidの存在が報告されているものの、比較的研究の進んでいる哺乳類や鳥類に比べて遅れているのが現状である。しかし、魚類は人を含む脊椎動物の最下等に位置することから、脊椎動物進化と胆汁塩の構造変遷を考察する上でその胆汁成分を明らかにすることは重要と考えられる。メダカ (Japanese rice fish; *Oryzias latipes*) はダツ目メダカ科に属し、東アジアから東南アジアにかけて広く分布する体長4cm程度の淡水魚であり、最近では広く生物学的研究のモデル生物として広く用いられているものの、胆汁成分については研究されていない。
- 2. 実験** 利根川水系で採取されたメダカ約1000匹から胆汁を採取し、直ちに4倍量のイソプロパノールで希釈した。胆汁は常法による前処理を施した後、蒸発光散乱検出器 (ELSD) を備えた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で測定したところ、4種の主要成分 (A~D) が存在することが判明した。次いで、主要成分を分取し、各成分をESI-MS/MS及び関連二次元NMR (HMBC, HMQC, NOE) で構造解析を行った。
- 3. 結果** それぞれのピークの保持時間を既知標品と比較したところ、ピークAが3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 β -cholan-24-oyl taurine (TCA), ピークCが (25S)-3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 β -cholestan-27-oyl taurine (25S-THCA), ピークDが (25R)-3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 β -cholestan-27-oyl taurine (25R-THCA) と一致した。さらに25S-, 25R-THCAエピマーの¹H-, ¹³C-NMRスペクトルを詳細に解析した結果、両エピマーのNMRスペクトルを比較すると、¹³C-NMRでは側鎖炭素の化学シフト値に差が認められ、¹H-NMRでは抱合しているタウリンのピーク形状に差が認められた。これらの知見は両エピマーの相互鑑別に有効に利用されよう。
- 4. 考察** 魚類における胆汁主成分としては、5 α -Cyprinol (3 α , 7 α , 12 α , 26, 27-Pentahydroxy-5 α -cholestane) を代表とするC₂₇胆汁アルコールやC₂₄のHaemulcholic acid (3 α , 7 α , 22 β -Trihydroxy-5 β -cholanoic acid) の存在がもっぱら報告されてきた。今回メダカ胆汁主成分がコール酸及びC₂₇胆汁酸であることが判明したことは、比較生物学的見地から興味深い。メダカ以外のダツ目魚類の胆汁成分と比較したところ、C₂₇胆汁酸が含まれていなかったことから、メダカはラセマーゼ活性が低いためにC₂₇胆汁酸、特に25R-THCAを主要成分が存在しているものと考えられる。現在のところこのような種が存在する意味は不明であるが、今後、魚類における保有胆汁酸の系統分類を構築していくうえで、貴重なデータのの一つになり得るものと期待される。

【研究発表】

- 1) 小川祥二郎, 飯田隆, 眞野成康, 後藤順一, Lee R. Hagey, Alan F. Hofmann, 「メダカ (*Oryzias latipes*) の胆汁成分に関する研究」第31回胆汁酸研究会, 2009年11月7日 (東京)。

[学術論文]

- 1) Hagey, LR.; Iida, T.; Tamegai, H.; Ogawa, S.; Une, M.; Asahina, K.; Mushiake, K.; Goto, T.; Mano, N.; Goto, J.; Krasowski, MD.; Hofmann, AF. "Major biliary bile acids of the Medaka (*Oryzias latipes*): 25R- and 25S-epimers of 3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 β -cholestanoic Acid" *Zool. Sci.* in press.
- 2) Okihara, R.; Mitamura, K.; Hasegawa, M.; Mori, M.; Muto, A.; Kakiyama, G.; Ogawa, S.; Iida, T.; Shimada, M.; Mano, N.; Ikegawa, S. "Potential Corticoid Metabolites: Chemical Synthesis of 3- and 21-Monosulfates and their Double-Conjugates of Tetrahydrocorticosteroids in the 5 α - and 5 β -Series" *Chem. Pharm. Bull.* **2010**, *58*, 344.
- 3) Ogawa, S.; Wakatsuki, Y.; Makino, M.; Fujimoto, Y.; Yasukawa, K.; Kikuchi, T.; Ukiya, M.; Akihisa, T.; Iida, T. "Oxyfunctionalization of Unactivated C-H Bonds in Triterpenoids with *tert*-Butylhydroperoxide Catalyzed by meso-5, 10, 15, 20-Tetramesitylporphyrinate Osmium (II) Carbonyl Complex" *Chem. Phys. Lipids.* **2010**, *163*, 165.
- 4) Ikegawa, S.; Hasegawa, M.; Okihara, R.; Shimidzu, C.; Chiba, H.; Iida, T.; Mitamura, K. "Simultaneous Determination of Twelve: Tetrahydrocorticosteroid Glucuronides in Human Urine by Liquid Chromatography/Electrospray Ionization-linear Ion Trap Mass Spectrometry" *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 10124.
- 5) Yasukawa, K.; Iida, T.; Fujimoto, Y. "Relative Inhibitory Activity of Bile Acids Against 12-O-Tetradecanolyphorbol-13-acetate-induced Inflammation, and Chenodeoxycholic Acid Inhibition of Tumour Promotion in Mouse Skin Two-stage Carcinogenesis" *J. Pharm. Pharmacol.* **2009**, *61*, 1051.
- 6) Kakiyama, G.; Muto, M.; Shimada, M.; Mano, N.; Goto, J.; Hofmann, AF.; Iida, T. "Chemical Synthesis 3 β -Sulfoxy-7 β -hydroxy-24-nor-5-cholenic Acid: An Internal Standard for Mass Spectrometric Analysis of the Abnormal delta-5-Bile Acids In Niemann-Pick Disease" *Steroids* **2009**, *74*, 766.
- 7) Hagey, LR.; Kakiyama, G.; Muto, A.; Iida, T.; Mushiake, K.; Goto, T.; Mano, N.; Goto, J.; Oliveira, CA.; Hofmann, AF. "A new, major C₂₇ biliary bile acid in the Red-winged tinamou (*Rhynchotus rufescens*): (25R)-1 β , 3 α , 7 α -trihydroxy-5 β -cholestan-27-oic acid" *J. Lipid Res.* **2009**, *50*, 651.