総 説

胆 ジ ュ ウ 酸 研 究 の 進 歩

早 川 昌 平

塩野義製薬株式会社研究所 (大阪市福島区鷺洲上 2-47)

Advances in Bile Acid Research

Shohei HAYAKAWA

Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd. (Fukushima-ku, Osaka)

1 は じ め に

約 10 年前、著者¹⁾ は一般的な胆ジュウ酸生化学の紹介を行なったが、その後内外より多数の総説や解説書が刊行された^{2)~17)}。これらのすぐれた刊行物がある現在、本誌の貴重な誌面を著者の記述に費やすことを私自身非常に心苦しく感じたが、旧著の内容を補足する意味で主として 1957 年から今日までの胆ジュウ酸生化学の進歩の跡を簡単に紹介させていただくことにする。紙数の関係で一般的な解説は省略したので、必要ならば数野¹⁸⁾の著述か拙著をみていただきたい。

2 天然物としての胆ジュウ酸と胆ジュウアルコール

2.1 一次胆ジュウ酸と二次胆ジュウ酸

1957 年 Lindstedt ら¹⁹⁾ がウサギの胆ジュウの主成分である deoxycholic acid は腸内微生物による cholic acid (2) の代謝産物であることを指摘して以来、天然胆ジュウ成分と信じられていたいくつかの胆ジュウ酸が、腸内微生物による人工産物であることが明らかにされた。肝臓で cholesterol (78) より生合成された胆ジュウ酸は一次胆ジュウ酸 (primary bile acid) と呼ばれ、腸肝循環のさい腸管内に常在する微生物によって修飾された胆ジュウ酸は二次胆ジュウ酸 (secondary bile acid) と呼ばれる。二次胆ジュウ酸のうちのいくつかは門脈より吸収され、肝臓でふたたび種々な修飾を受け、この修飾された胆ジュウ酸もまた二次胆ジュウ酸として取り扱われる。種々な動物における両胆ジュウ酸の相関関係を、最近までの諸報告に基づいて図式化したものが図-1 である。点線より上部は肝臓における変換様式を、下部は腸管内におけるそれを示したものである。図式の煩雑化を避ける意味で肝臓での抱合胆ジュウ酸の生合成、腸内微生物によるその水解、および deoxycholic acid 以外の二次胆ジュウ酸の腸管よりの吸収などの図式化は省略した。またヒト腸管内の変換様式化は Eneroth

ら^{47), 48)} の人ふん分析の結果を示したに過ぎない。動物種により異なるが各種動物に共通した重要な一次胆ジュウ酸は cholic acid (2) と chenodeoxycholic acid (28) で、二次胆ジュウ酸は deoxycholic acid, pythocholic acid, hyodeoxycholic acid (31), ursodeoxycholic acid および lithocholic acid (11) などで代表される。図-1 中の胆ジュウ酸はすべて 5 β -cholanoic acid (1 a) と 5 α -cholanoic acid (1 b) の誘導体で、図-1 の省略記号を図の下に示しておく。

以上述べてきたように、二次胆ジュウ酸の生成反応はつぎのように分類できる。1) 抱合胆ジュウ酸の水解 (腸内微生物), 2) $>\text{CH}\cdot\text{OH}\rightleftharpoons\text{C}=\text{O}$ (腸内微生物および肝臓), 3) 7 α -OH の脱水酸基 (腸内微生物), 4) 6 β -, 7 α -, 12 α -あるいは 16 α -OH 化 (肝臓), 5) A/B cis $\rightarrow$ A/B trans (腸内微生物)。このほかに Norman⁵⁵⁾ は 3 β -OH-胆ジュウ酸の腸内微生物による長鎖脂肪酸エステルの生成を報告している。上記 3) 7 α -OH の脱水酸基 (dehydroxylation) 反応は Samuelsen⁴⁶⁾ により 4 β -体を中間体とする機構が証明されており、1962 年 Portman ら⁵⁶⁾ は盲腸内容物中より初めてこの変換能をもつ細菌を純粋分離した。しかしこの未同定カン菌は移植を続けると変換能を失うらしい。ついで Cocucci ら⁵⁷⁾ はふん便から *Clostridium bifermentans* *E. coli* var. *communis* および *Pseudomonas aeruginosa* などを分離同定し、Gustafsson ら⁵⁸⁾ はラットとヒトのふん中より chenodeoxycholic acid (28) より lithocholic acid (11) を作る嫌気性 *Lactobacillus*⁵⁹⁾ を分離した。また Hill ら⁶⁰⁾ は腸内微生物による 12 α -脱

[CHOLESTANOL], 5α-cholestan-3β-ol; [CHOLESTEROL], cholest-5-en-3β-ol; [CHOLIC], cholic (3α, 7α, 12α-trihydroxy-5β-cholanoic) acid; [CHENO], chenodeoxycholic (3α, 7α-dihydroxy-5β-cholanoic) acid; [CHOLENIC], 3β-hydroxychol-5-enoic acid; [LITHO], lithocholic (3α-hydroxy-5β-cholanoic) acid; [ALLOCHOLIC], allocholic (3α, 7α, 12α-trihydroxy-5α-cholanoic) acid; [ALLODEOXY], allodeoxycholic (3α, 12α-dihydroxy-5α-cholanoic) acid; [3αOH-7OXO], 3α-hydroxy-7-oxo-5β-cholanoic acid; [α-MURI], α-muricholic (3α, 6β, 7α-trihydroxy-5β-cholanoic) acid; [β-MURI], β-muricholic (3α, 6β, 7β-trihydroxy-5β-cholanoic) acid; [HYOCHOLIC], hyocholic (3α, 6α, 7α-trihydroxy-5β-cholanoic) acid; [DEOXY], deoxycholic (3α, 12α-dihydroxy-5β-cholanoic) acid; [URSO], ursodeoxycholic (3α, 7β-dihydroxy-5β-cholanoic) acid; [PYTHOCHOLIC], pythocholic (3α, 12α, 16α-trihydroxy-5β-cholanoic) acid; [3α, 6β-diOH], 3α, 6β-dihydroxy-5β-cholanoic acid; [HYODEOXY], hyodeoxycholic (3α, 6α-dihydroxy-5β-cholanoic) acid; 残余のものは [3αOH-7OXO] と [3α, 6β-diOH] に準ずる。

図-1 ヒトおよび各種動物における一次胆ジュウ酸と二次胆ジュウ酸との相関関係

Chart 1

離同定し、最近 **10** を単離した。**8** と **9** の単離にはいまだ成功していないが、諸分解産物の構造に基づいて **2** の分解経路として 図-2 を推定している。同時に Chart 1 に示すルートに従って **10** を合成し、図-2 の分解経路 **2**→**10** において **2** の立体配置は分解産物 **10** にそのまま保持されていることを証明した⁶⁷⁾。また著者ら^{68), 69)} は

Streptomyces rubescens による **2** の変換産物として、上記の **10** とともに数種の含窒素化合物 **19**~**23** を単離同定した。**23** の前駆物質はおそらく **24** と推定されるが、このインダンカルボン酸 **24** は Talalay⁷⁰⁾ の総説にみられるようにすでに胆ジュウ酸以外のステロイドの微生物による変換産物として知られているので、**2** より **23** 生成の事実は構造的に異なるステロイドが共通した中間体を経て分解されることを示唆している点で興味深い。つぎに著者ら⁶⁹⁾ は **10** を唯一の炭素源とした培地に *Corynebacterium equi* を培養すると、**10** とアミノ酸との抱合体が培地中に出現することを見だし、その一種を単離し **25** と同定した。

最近 Severina ら⁷¹⁾ は **2** を *Mycobacterium sp.* で分解し 4^4 -3-ケトンや $4^{4,6}$ -3-ケトンの構造をもつ C_{22} -

Chart 2

や C_{24} -酸のほか **26 a** と **27 a** を分離し、この両者を主として物理化学的方法により構造決定した。興味あることに **26 b** をオキシ塩化リンとピリジンで処理すると、予期した脱水産物 4,6,8-トリエノン体を与えずに **27 b** を与える。

上記の *in vitro* の変換反応、すなわち微生物による胆ジュウ酸側鎖の減成反応やその骨格の開環反応が、動物の腸管内でも起こり得るかどうかについてはいまだなんらの知見も得られていないし、また腸内微生物が肝臓における水酸基導入に相当した反応を触媒するかどうかについても明らかにされていない。

2.2 C_{24} -胆ジュウ酸, 高級胆ジュウ酸および胆ジュウアルコール

旧著¹⁾以後に新胆ジュウ成分として単離されたものと、古くより今日まで引き続きその構造が検討されているものについてその構造決定の経過を簡単に紹介したい。

2.2.1 C_{24} -胆ジュウ酸

1) α -muricholic acid (**41**), β -muricholic acid (**33**) および ω -muricholic acid (**35**) Matschiner ら⁷²⁾ はラット胆ジュウの微量成分として前二者を単離し、Chart 2 に示すように methyl 3 α -acetoxy-7-oxo-5 β -cholanoate (**42**) から武田ら^{73), 74)} が合成した α -ブロムケトン (**29**) と α -ケトール (**30**) から主として合成により構造を決定した。武田らは **30**→hydoxycholeic acid (**31**) により **30** の 6 α -OH を証明している。Hsia ら⁷⁵⁾ はまず hyocholic acid (**34**) と β -muricholic acid (**33**) をクロム酸酸化し、**42** より別途合成した **38** に導き両者の関係を明らかにした。ついで **30** の接触還元で **34** を、また **29** の NaBH_4 還元でブロムヒドリン (**32**) を得、**32**→chenodeoxycholeic acid (**28**) により **32** の

7 α -OH を確認後 **32** から **36** を導いた。**36**→ α -epoxide (**40**)→diaxial *trans*-glycol (**41**) の反応で α -muricholic acid (**41**) を合成、また二重結合を *cis*-glycol に変換する四酸化オスミウムあるいはハロゲンと酢酸銀による酸化法とを **36** に応用し **33** を合成した⁷⁶⁾。Hsia ら⁷⁵⁾ は以前 **30** の Meerwein-Ponndorf 還元で **33** を得ていたが、本還元法では異性化が起こることを本実験で明らかにするとともに、Kagan⁷⁷⁾ が旋光度の研究より提出した **33** の構造を再確認した。

Matschiner ら⁷⁸⁾ は hydoxycholeic acid (**31**) のラットにおける代謝産物として ω -muricholic acid (**35**) を分離し、Hsia ら⁷⁹⁾ は **30** のピラニルエーテル誘導体を還元し **35** を合成した。さらに Hsia ら⁸⁰⁾ は **34** と **35** より **39** を経て結晶性の **43** を導き両者の関係を証明した。muri はネズミ (*mus*, *muris*) を意味し、接頭語 α, β は C_7 -OH の配置に由来している⁸¹⁾。

2) Allocholic acid (**49**) と allo 系 C_{24} -胆ジュウ酸 太田⁸²⁾ と井坂⁸³⁾ の tetrahydroxynorsterocholanic acid ($C_{27}H_{46}O_6$) はその後 Anderson ら⁸⁴⁾ により王様ペンギンの胆ジュウからも分離され cholic acid (**2**) の異性体と推定された。Anderson ら⁸⁵⁾ は太田⁸²⁾ が本酸を allocholanoic (5 α -cholanoic) acid (**1 b**) に誘導している事実に注目し、太田の酸に allo 系胆ジュウ酸の疑いを持ち、Chart 3 のルートに従って allocholic acid (**49**) を合成した。武田ら^{74), 86)} はさきの **42**→**29**→**30** に習い ethyl 3 α , 12 α -diacetoxy-7-oxocholanoate (**44**) より **45** を経て **46** を導き、**45** あるいは **46** を熱アルカリで 5 α -ケトール (**47**) に異性化した。Anderson ら^{85), 87)} は常法で **47** を **48** に変え、**48** を N-ブロムスクシンイミドで酸化して 7-ケトン体とし、ついで接触還元により **48** とともに **49** を得た。Anderson ら⁸⁵⁾ は

Chart 3

49 のメチルおよびエチルエステルと 2 のそれぞれ相当したエステルとを 2:1 wt/wt に混合し、これが太田の酸の相当したエステルに一致することを確認した。井坂⁸³⁾が太田の酸より化学的に誘導した 3 α , 6 α , 12 ϵ -trihydroxy-5 β -cholanoic acid の合成に関する武田⁸⁸⁾と Haslewood⁸⁷⁾の研究があるが省略する。最近 49 は魚類^{89), 90)}, ヘビ類⁹¹⁾, サラマンダー⁹²⁾, ヒョウアザラシ⁹¹⁾, ニワトリ⁹³⁾ および ヒトを含めたホ乳類^{88), 94)}などの胆ジュウ中に存在することが知られているし、また後述するように allo 系の高級胆ジュウ酸や胆ジュウアルコール類も多数知られている。そこでその代謝論的研究の要請より allo 系胆ジュウ酸の合成法についての研究がある。遊川⁹⁵⁾や Hofman⁵⁴⁾は上記の 45 (46)→47 の allomerization を利用し、47 の Hung-Minlon 還元で allodeoxycholic acid (51) を合成している。Chakravarti⁹⁶⁾は A/B *cis* の 3-ケトン体を芳香族溶媒中でラネーニッケルと長時間加熱すると A/B *trans* 体に異性化することを見いだした。Danielsson⁵⁰⁾はこの方法を用い 51 を、Ziller⁹⁷⁾allochenodeoxycholic acid を合成している。Mitra⁹⁸⁾はこの方法を発展させて methyl cholate より二段階で methyl allocholate を約 9% の収量で得ている。他方、Kallner⁹⁹⁾は普通の胆ジュウ酸を 4 α -3-ケトン体に誘導したのち、これを液体アンモニアとリチウムで A/B *trans* の 3-オンと 3 β -オールの混合物に還元し、前者に Haddad¹⁰⁰⁾のイソプロパノール、水、トリメチル垂リン酸および塩化イリジウムを用いる還元法を応用し allo 系胆ジュウ酸を合成している。これらの研究で 5 α -配置の決定には Djerassi¹⁰¹⁾の旋光分散と Budzikiewicz¹⁰²⁾の質量スペクトルの研究がおもに利用されている。

酸化銀で酸化し norcholic acid を得 50 式を与えた。Haslewood⁹¹⁾は水酸基 3 個の β -酸からは接頭語 β をとり、水酸基 4 個の α -酸からは水酸基 3 個を暗示する cholic acid の名称を除き cholanoic acid 誘導体として命名することを提案している。

4) β -lagodeoxycholic acid (allodeoxycholic acid) (51) 遊川⁹⁵⁾は別途合成した allodeoxycholic acid (51) の物理恒数が岸¹⁰⁵⁾の β -lagodeoxycholic acid のそれによく一致することを認めたが比較同定は行なわな

3 β , 12 β -dihydroxy-5 β -cholanoic acid を合成したが、これは岸の α -lagodeoxycholic acid には一致しなかった。

5) bitocholic acid (52) Haslewood⁹¹⁾はヘビ、*Bitis gabonica* および *B. arietans* の胆ジュウ中より

本酸を分離し、50 の場合と同様な酸化分解で nordeoxycholic acid を得 52 式を与えた。

50 の腸内微生物による変換産物と推定されている。

6) haemulcholic acid (53 a) 穂下¹⁰⁷⁾は *Haemulidae* に属するイサギの胆ジュウ中より本酸を分離し、そのエステルの Barbier-Wieland 分解で dinorchenodeoxycholic acid (53 b) を得、同じエステルをクロム酸酸化して β -ケト酸エステルを得た。この β -ケト酸エステルのアルカリ

処理および遊離酸 (53 a) のクロム酸酸化で同一産物 3,7-dioxo-24, 23-dinor-5 β -cholanoic acid が得られるので 53 a 式が与えられた。C₂₂-OH は分子旋光度より β -配置と決定されている。

2.2.2 高級胆ジュウ酸

1) trihydroxybufosterocholenic acid (ガマ酸) (54 b) と trihydro-

oxyisosterocholenic acid (異性ガマ酸 (54 a)) 相当古くより両酸の C₂₂までの構造は完全に証明されおり、前者に 54 a 後者に 54 b が推

定されていた¹⁾。1953 年馬場¹⁰⁸⁾はガマ酸の基本酸 (24-methyl-5 β -cholestan-26 (or 27)-oic acid) に赤外線吸収スペクトル (IR) が一致する物質を合成し前者に対して **54 a** 式を支持した。しかし 1959 年穂下¹⁰⁹⁾は 3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-25-homo-5 β -cholan-24-one (**55**) から Reformatsky 反応で **56** を経て **57** を合成しこれを接触還元して **58** に誘導した。この **58** のメチルエステルと飽和異性ガマ酸メチルエステルの IR が完全に一致する点より異性ガマ酸に **54 a** 式を与えた。1967 年穂下¹¹⁰⁾は 3 α , 7 α , 12 α -triacetoxy-5 β -cholestan-24-one (**59**) よりシアンヒドリン (**60**) と不飽和ニトリル (**61**) とを経て **62** を合成した。この **62** のメチルエステルの IR および核磁気共鳴吸収スペクトル (NMR) が飽和ガマ酸のメチルエステルのそれらに完全に一致すること、さらにこの両者のガスクロマトグラフィー (GC) のデータを比較してガマ酸に **54 b** 式を与えた。

2) vararnic acid (**63**) Collings ら¹¹¹⁾ は以前トカゲから分離されていた本酸を、井内ら¹¹²⁾ が cholic aldehyde より Reformatsky 反応で合成した 3 α , 7 α , 12 α , 24 ξ -tetrahydroxy-5 β -cholestan-26 (or 27)-oic acid と比較し、両者の近似性より井内らの酸の C₂₄/C₂₅ の異性体と推定している。

3) Bufonic acid I と II 奥田ら¹¹³⁾ によってガマ胆ジュウより分離され、酸 I は接触還元で 3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 β -cholestan-26-oic acid (**90**) を与える点は、著者¹⁾の 3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 β -cholestan-23-en-26-oic acid と似ているが、本酸はオゾン酸化で

norcholic acid を与えず、またその 220 m μ の紫外外部吸収を三置換二重結合と解釈して、二重結合を核に含む 3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 β -cholestan-16 (or 14)-en-26-oic acid の構造が提出されている。酸 II の構造は不明である。奥田ら¹¹³⁾ はこの報告で著者の Δ^{23} -C₂₇-酸の存在を否定しているが、穂下¹¹⁴⁾はその後ガマ胆ジュウの主成分はガマ酸 (**54 b**) とこの Δ^{23} -C₂₇-酸と報告しているので、ガマ酸、異性ガマ酸, bufonic acid I と II および Δ^{23} -C₂₇-酸などの相互関係が近く明らかにされることであろう。

4) 3 α , 7 α , 12 α , 22 ξ -tetrahydroxycoprostanic lactone (**64 b**) 古くスッポンの胆ジュウ酸として tetrahydroxysterchocholanic lactone (**64 a**)¹⁾ が分離されてい

64 a, R = Me **b**, R = H

たが、網本ら¹¹⁵⁾はこの成分を再検討し、質量スペクトルおよび NMR のデータに基づいて **64 a** 式の C₂₄-メチル基の存在を否定し、**64 a** 式を **64 b** 式に訂正した。Collings ら¹¹¹⁾

によると同じ研究室の Tammar が本物質をオオウミガメの胆ジュウより分離しこの構造を与えている。

5) 3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 α -cholestan-26-oic acid 奥田ら¹¹⁶⁾はイグアナ (メキシコ産トカゲ) の胆ジュウより本酸をきわめて微量分離し、GC-質量スペクトル分析から上記の構造を推定し、最終的にはそのメチルエステルを LiAlH₄ で還元し、穂下¹¹⁷⁾の 27-deoxy-5 α -cyprinol (**71 d**) に導き同定した。

6) 3 α , 7 α -dihydroxy-5 β -cholestan-26-oic acid Dean ら^{118), 119)}はワニ胆ジュウの副成分として本酸を分離し、Kolbe 電解法で chenodeoxycholic acid (**28**) と 3-carbomethoxybutyric acid とより本酸を合成して

同定した。酸およびそのエステルともに無晶形である。

7) その他 岡田ら¹²⁰⁾はウナギ胆ジュウより $C_{27}H_{44}O_5$ の構造不明のラクトン2種を分離している。

2・2・3 胆ジュウアルコール

天然胆ジュウアルコールと信じられていたもののなかに、その硫酸エステルのアルカリ水解時の人工産物が多数含まれていることが明らかにされた。この人工産物を与える反応はつぎの式で表わされ、1952年 Haslewoodら¹²¹⁾によって ranol sulfate (72 a) の水解時に指摘されていた。

1) scymnol (65 d) α -scymnol に対して 65 a と 65 b の両式が提出されていたが、Cross¹²²⁾ はそのアセテートの NMR に 65 a 式の C_{25} -メチルのシグナルがない点、および α -scymnol の IR がトリメチレンオキシド環の存在を示す点に基づいて 65 b 式を支持した。

65 b の LiAlH_4 還元で dihydroscymnol (65 c) を得、

(65 e) のアルカリ水解で 65 b を、トリクロル酢酸-ジオキサンの酸水解で hexol (65 d) を分離し、65 e のクロム酸酸化で 3, 7, 12-trioxo-5- β -cholanoic acid を得、Cross の 65 e 式を支持した。ついで cholic acid (2) の酸クロリド誘導体 66 にマロン酸エステルを縮合

し 67 に導き、これを NaBH_4 ついで LiAlH_4 で還元し tetrol (68) とともに、scymnol (65 d) を 2 より 0.5% の収率で得て 65 d の構造を証明した。

2) 5 α -bufol と 5 β -bufol (69 a) 奥田ら¹²⁴⁾ はガマ胆ジュウの中性成分のアルカリ水解で pentol を得、これを四酢酸鉛で

酸化してメチルケトン (69 b) に導き、この 69 b の構造を別途合成により証明し pentol に 69 a 式を与えた。

穂下ら¹²⁵⁾ はイモリの胆ジュウの中性成分を酸水解し、その水解物中に 27-deoxy-5 α -cyprinol (71 d) より

4²⁵-体を経て別途合成した 5 α -cholestane-3 α , 7 α , 12 α , 25 ξ , 26 (or 27)-pentol の存在を証明し 5 α -bufol と命名し、奥田らの pentol (69 a) を 5 β -bufol とした。

3) chimaerol (70) Bridgwater は¹²⁶⁾ ギンザメ、*Chimaera monstrosa* の胆ジュウを酸水解して mp 178~182°C の chimaerol (70) を得た。これは Cross¹²²⁾ が合成した 65 c (mp 179~184°C) に非常によく似た性質を示すが混融すると 176~182°C で溶融し、両者は同一物ではなく、天然の 70 に対して分子旋光度の知見より 26-ol の構造を推定している。

質を示すが混融すると 176~182°C で溶融し、両者は同一物ではなく、天然の 70 に対して分子旋光度の知見より 26-ol の構造を推定している。

4) 5 α -cyprinol (71 b) と 5 β -cyprinol Haslewood¹²⁷⁾ は *Cypripinidae* (コイ科) の魚類胆ジュウより $C_{27}H_{43}(OH)_5$ の cyprinol を単離し、Briggs ら¹²⁸⁾

はその分子中に allocholic acid (49) の骨格の存在を推定していた。穂下¹¹⁷⁾ はコイの胆ジュウのアルカリ水解で triol (71 c) を分離し、その酸化分解で 49 を得、71 c の LiAlH_4 還元産物中に別途合成した tetrol (71 d) 類似物質の存在を認めて cyprinol sulfate に 71 a 式を提出した。ついで穂下¹²⁹⁾ は同じ材料を酸水解して pentol (71 b) を得、主として NMR のデータに基づいてこの 71 b 式を提出した。Anderson¹³⁰⁾ にも同様に 71 b および 71 c を分離し、前者のクロム酸酸化で 3, 7, 12-trioxo-25-homo-5 α -cholanoic acid を得、この側鎖の酸化機構を

と説明し、cyprinol sulfate に対し 71 a 式を与えた。Cross¹³¹⁾ も NMR のデータに基づいて cyprinol に対して Anderson の 71 b 式を支持した。穂下¹³²⁾ は 5 β -cholestane-3 α , 7 α , 12 α , 26, 27-pentol の自然界への存在を予想して本物質を合成していたが、その予想通りにこの pentol をウナギの胆ジュウ中に見いだし 5 β -cyprinol と命名した¹³³⁾。その結果上記の 71 b は 5 α -cyprinol と呼ばれる¹⁴⁾。

5) 27-deoxy-5 α -cyprinol (71 d) と 27-deoxy-5 β -cyprinol 穂下¹³⁴⁾ はコイ胆ジュウ中より 5 α -cyprinol (71 b) とともに前者を分離し、別途合成¹¹⁷⁾ によりその構造を証明した。 C_{25} -位の配置は分子旋光度の知見より 27-deoxy-体と考えられている。また穂下¹¹⁴⁾ はガマにおける cholesterol (78) 代謝産物として 71 d を分離し、しかもこのものが牧野¹³⁵⁾ の tetrahydroxybustane に一致することを証明した。同時に 78 の代謝産物として 27-deoxy-5 β -cyprinol を分離し、その構造を別途合成により確認した。

6) 5 α -ranol (72 b) と 5 β -ranol Haslewood^{121), 136)} はカエルの胆ジュウより ranol sulfate (72 a) を分離しこれをクロム酸酸化後水解し、24 ξ -hydroxy-3, 7, 12-trioxo-25, 26-dihomo-5 α -cholan-26-oic acid と推定される物質を得、またこの 72 a の酸水解で得ら

れる ranol (72 b) のクロム酸酸化で 3, 7, 12-trioxo-5 α -cholan-26-oic acid を得、ranol の骨格は allocholic acid (49) でその炭素数は 26 と推定、もとの硫酸エステルに 72 a 式を提出した。Cross¹³⁷⁾ は 5 α -cyprinol (71 b) と ranol のそれぞれの tetraacetate

の NMR と質量スペクトルとを比較し、両者の環構造がきわめてよい一致を示すことを認め 72 b 式を支持した。数野^{138), 139)} は食用欧州産アカガエルの胆ジュウより一新胆ジュウアルコールを分離し、このアルコールが cholic aldehyde と α -ブロム酢酸エステルとの Reformatsky 反応で合成した β -オキシ酸エステルを LiAlH_4 で還元して得られる 25, 26-dihomo-5 β -cholane-3 α , 7 α , 12 α , 24 ξ , 26-pentol に一致することを確認し、これを 5 β -ranol と命名した。そこで 72 b の pentol は 5 α -ranol と呼ばれる¹⁴⁾。

7) latimerol (73 c) Haslewood¹⁴⁰⁾ はシーラカ

スの胆ジュウより本物質を単離し、その後 Anderson¹⁴¹⁾ はその硫酸エステル (73 a) のアルカリ水解で得られる anhydro-latimerol (73 b) のクロム酸酸化産物が 5 α -anhydro-cyprinol (71 c) の酸化産物に一致するところよりその

骨格構造を証明した。さらに酸水解で得られる latimerol (73 c) がジギトニンで沈殿するので 3 β -OH の存在を推定し、ethyl 3 β , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 α -cholanoate と 73 c の IR を比較して核構造の類似性を知り latimerol に 73 c 式を提出した。

8) myxinol (75 a) Haslewood^{142), 143)} はメクラウナギの胆ジュウより本物質の二硫酸エステルの金属塩 (74) を分離し、その酸水解によって tetraacetate (75 b) を与える myxinol (75 a) を得た。74 をクロム酸酸化後水解するとジギトニン沈殿性で diacetate (76 b) を与える ジケトン体 (76 a) が得られ、75 a のクロム酸酸化でケトカルボン酸 (77) を与え、また 75 b の質量スペクトルは m/e 253 (M -側鎖-3 AcOH) と m/e 409 (M -3 AcOH-Me) に強いピークを示した。これらの事実と胆ジュウ酸の生合成経路の考察より、炭素数 27 で 3 β , 7 α , x , 26-tetrol の構造が推定され、75 a, 75 b, 76 a および 77 の分子旋光度の研究より x として 16 α -位が推定され、myxinol として 75 a 式の 5 β -異性体の構造が与えられた。Cross¹⁴⁴⁾ も質量スペクトルや NMR を用いて 75 b を検討し Haslewood の推定式を支持した。しかし Anderson¹⁴⁵⁾ はその後この 5 β -配置に疑問をもち Cross と協同して 75 b を 77 について種々な物理化学的方法でその構造を再検討し myxinol を 75 a 式に訂正した。二個の硫酸エステル結合を

もつ胆ジュウアルコールの最初の報告である。

9) pentahydroxybufostane 数野¹⁴⁶⁾がガマ胆ジュウより分離し 24-methyl-5 β -cholestane-3 α , 7 α , 12 α , 24 ξ , 25 ξ -pentol の構造を与えていたが、穂下¹⁴⁴⁾によると本物質は 5 β -bufol (69 a) の硫酸エステルをエタノール性カセイアルカリで水解するときに得られる人工産物で、その構造を 26-ethoxy-5 β -cholestane-3 α , 7 α , 12 α , 25 ξ -tetrol に訂正した。このほか今までに分離同定したもののなかに人工産物が含まれていたことを数野¹³⁹⁾は報告している。

3 一次胆ジュウ酸の生合成

1943 年 Bloch ら¹⁴⁷⁾がイヌにおける cholesterol(78)より cholic acid (2) の生合成を報告して以来、ヒトはもちろんイヌ、ウサギ、ブタ、ラット、マウス、モルモット、ニワトリ、ヘビ、ワニ、ガマ、カエルおよびコイなどの動物でも 78 より胆ジュウ酸の生合成が明らかにされている¹⁴⁾。78 より C₂₄-一次胆ジュウ酸生合成の反応は、1) C₅/C₆ 二重結合の飽和、2) C₆-, C₇-, C₁₂-, C₁₆-, C₂₂-あるいは C₂₃-OH 化、3) 3 β -OH から 3 α -OH への反転および 4) 側鎖の酸化付加の 4 段階よりなっている。その研究方法は、78 または胆ジュウ酸の仮設的前駆物質を ¹⁴C/³H でラベルした化合物と、胆管ロウ(瘻)を作った動物とを用いて行なう *in vivo* の実験と、これらの化合物とラットやマウスなどの肝臓標本とを用いて行なう *in vitro* の実験よりなっている。この両研究から最近 10 年間に得られた生合成経路の成果は、動物を哺乳動物に限定した場合、図-3 のように図式化できるだろう。以下この図式化に到達した経過を簡単に紹介していくことにする。

3.1 前駆物質の検索

3.1.1 *in vivo* の研究

ラットで主として 2 に変換される C₂₇-ステロイドは、Bergström ら¹⁴⁸⁾により 86, Bridgwater ら¹⁴⁹⁾により 90, 清水¹⁵⁰⁾により 87, Danielsson ら¹⁵¹⁾により 5 β -ranol, Berséus ら¹⁵²⁾により 82 と 83 および Björkhem¹⁵³⁾により 85, 86 と 87 などが報告されている。他方同じくラットで 2 と 28 の両者に特定の比率で変換されるものとしては、Lindstedt¹⁵⁴⁾の 79, Danielsson¹⁵⁵⁾の 94 と 95, Danielsson¹⁵⁶⁾と Björkhem ら¹⁵⁷⁾の 80, Danielsson¹⁵⁸⁾の 84 および

Björkhem ら¹⁵⁹⁾の 85 とその C₃-異性体などが知られている。また Bridgwater¹⁶⁰⁾は 96 a $\rightarrow$ 28(96 a $\rightarrow$ 2)を、Danielsson¹⁶¹⁾は 91 $\rightarrow$ 28, 33 と 41 を、Berséus ら¹⁶²⁾は 96 b $\rightarrow$ 28, 33, 41 と 2 (微量)を、および Bell ら¹⁶³⁾は 96 c $\rightarrow$ 2, 11, 33, 41 と 3 α , 6 β -dihydroxy-5 β -choleanoic acid をラットを用いて行なっている。さらに Staple ら¹⁶⁴⁾は 78 $\rightarrow$ 80 を、Carey ら¹⁶⁵⁾は 78 $\rightarrow$ 90 $\rightarrow$ 2 をそれぞれヒトについて証明している。

3.1.2 *in vitro* の研究

1957 年 Bergström ら¹⁶⁶⁾はラット肝臓 ホモゲネートを用い 90 $\rightarrow$ 2 を証明したが、その後 1966 年 Mendelsohn ら¹⁶⁷⁾が初めてラット肝臓標本で成功するまで、78 より胆ジュウ酸生合成の報告はない。1963 年までの研究はつぎの二つに分類でき、その一つは 78 それ自身の代謝で、まず Anfinson ら¹⁶⁸⁾, Horning ら¹⁶⁹⁾および Whitehouse ら^{170), 171)}による側鎖の末端メチル基の炭酸ガスへの酸化、Whitehouse ら^{172), 173)}による末端イソプロピル基のアセトンへの酸化、および Fredrickson¹⁷⁴⁾や Danielsson¹⁶¹⁾による 91 への変換などである。今一つは仮設的前駆物質の代謝で、山崎¹⁷⁵⁾は 79 $\rightarrow$ 80 の可能性を示し、Danielsson¹⁵⁵⁾はこの 79 $\rightarrow$ 80 を確認さらに 79 $\rightarrow$ 94 と 95 を確認し、同じく Danielsson¹⁶¹⁾は 91 $\rightarrow$ 94 の変換を証明している。また Danielsson¹⁷⁶⁾は 87 $\rightarrow$ 88 と 90 をも証明し、Suld ら¹⁷⁷⁾は 87 $\rightarrow$ 88 と 90 のほかに、26, 27-¹⁴C の 87 および 88 を用いて 1, 3-¹⁴C-プロピオン酸が生成することを証明した。1963 年 Mendelsohn ら¹⁷⁸⁾はラット肝臓 ホモゲネートの 20,000 g 上清が 78 $\rightarrow$ 87 の変換を触媒すると報告した。この報告は 78 $\rightarrow$ 2 の各段階を研究する実験手技に一つの手がかりを与えた点で重要である。以下上記の *in vivo* と *in vitro* の報告に 1963 年以後の *in*

vitro の報告を加味して **2** と **28** の生合成について考察したい。

3・2 cholic acid (2) の生合成

3.2.1 ステロイド核の修飾

上記の *in vivo* の実験に用いられた仮設的前駆物質

の構造から明らかなように、**78** から **2** の生合成における核構造の修飾は側鎖の酸化的減成に先行していることを示している。またウサギでの *in vivo* の研究⁽¹⁷⁹⁾で、cholest-5-ene-3 β , 12 α -diol は主として 'deoxycholic acid' に代謝され **2** の充分な前駆物質にはなり得ないこ

とが知られている。この事実より C_7 -OH 化は C_{12} -OH 化に先行することが想像され、Danielsson ら¹⁵⁾は 2 の生合成の初期段階は $78 \rightarrow 79 \rightarrow 80$ (または $81 \rightarrow 82 \rightarrow 83 \rightarrow 87$) と推定している。Danielsson ら¹⁶⁾と Mendelsohn ら¹⁸¹⁾はこの推定経路中 $78 \rightarrow 79$ の段階が空気酸化によるものではなく酵素反応であることを証明している。最近 Danielsson ら^{182)~184)}は 82 と $83 \rightarrow 87$, また 80 と $81 \rightarrow 82$, および 78 と $79 \rightarrow 81$ と 82 の諸段階を酵素レベルで研究し、 $79 \rightarrow 81 \rightarrow 82$ よりも $79 \rightarrow 80 \rightarrow 82$ の経路の方が定量的に有意義であることを示している。これに対し Mendelsohn ら¹⁸⁵⁾は $78 \rightarrow 79 \rightarrow 80 \rightarrow 85 \rightarrow 86 \rightarrow 87$ の経路を提案している。すなわち *in vitro* で 78 は 86 に変換されるに反し 5β -cholestane- 3α , 12α -diol にはほとんど変換されないこと、また $78 \rightarrow 80$ が観察されるに反し $78 \rightarrow 84$ は認められないことなどは、 12α -hydroxylation の基質は 80 よりむしろ 86 と推定されるという。

Boyd¹⁸⁶⁾は肝臓における 78 の異化において、 78 あるいはその初期中間体の脂肪酸エステルが関与している可能性を示唆しているが、このエステルの胆ジュウ酸生合成上の意義は明らかにされていない。また Hutton ら¹⁸⁷⁾も部分的に純化した肝臓の酵素標品を用いて、 $79 \rightarrow 80$ と 95 , $80 \rightarrow 95$, $80 \rightarrow 85$ と 86 , および $84 \rightarrow 86$ などの変換について検討している。

3.2.2 側鎖の酸化的減成

経路 $87 \rightarrow 2$ のおもな反応は ω -酸化とそれに続いて起こる β -酸化で、その結果 87 は 2 とプロピオン酸 (propionyl-CoA) に分解される。このプロピオン酸の生成は Suld ら¹⁷⁷⁾によって最初報告され、ついで Mitropoulos ら¹⁸⁸⁾により再確認されている。 $88 \rightarrow 90$ の酵素反応に関与する cofactor やその酵素標品の精製などに関する研究が奥田ら¹⁸⁹⁾, Herman ら¹⁹⁰⁾および増井ら¹⁹¹⁾などによって報告されており、増井ら¹⁹²⁾はまた 90 の β -酸化を *in vitro* で検討している。

側鎖の酸化的減成に関連して Berséus¹⁹³⁾と Mitropoulos ら¹⁹⁴⁾は独立して cholesterol (78) の末端イソプロピル基の2個のメチル基への水酸基の導入は立体特異的であることを証明した。前者は $2\text{-}^{14}\text{C}$ -メバロン酸より生合成した $1, 7, 15, 22, 27\text{-}^{14}\text{C}$ -cholesterol (78) をマウス肝臓ホモゲネートとインキュベートして $1, 7, 15, 22, 27\text{-}^{14}\text{C}$ -cholest- $5\text{-ene-}3\beta, 26\text{-diol}$ (91) に、後者はラット肝臓ミトコンドリア画分を用いて $3\text{-}^{14}\text{C}$ -プロピオン酸におおの変換し、 78 の側鎖の水酸化はメバロン酸の β -メチル基から由来している C_{26} -位であることを証明した。この反応はマウスやラット以外の動物ではいまだ証明されていないが、ヒト¹⁹⁵⁾とワニ¹⁾の胆ジュウから 90 式の 26-oic acid が分離されているので、この立体特異的 C_{26} -水酸化反応は各種動物に共通して

いることが類推される。

3.3 chenodeoxycholic acid (28) の生合成 *in vivo* の研究で述べたように C_{12} -OH 化の前に C_{26} -OH 化された種々な物質は、容易にしかも優先的に 28 に代謝されることが知られている。この事実はこの酸の生合成経路の図式化を困難にしているようで、Danielsson ら¹⁵⁾によると $91, 94, 95$ および $96b$ などのすべてが正常な 28 の中間体とは考えられないという。Danielsson ら¹⁵⁾はこの生合成の経路を $78 \rightarrow 79 \rightarrow 80 \rightarrow 84 \rightarrow 86 \rightarrow 28$ と推定しているのに反し、Mendelsohn ら¹⁸⁵⁾は $80 \rightarrow 85 \rightarrow 86$ の経路を推定している。最近 Mitropoulos ら²²⁾は 78 をラット肝臓のミトコンドリアとその可溶性上清とともにインキュベートし、 $92, 93, 11, 28, 41$ および 33 の生成を証明し、 $78 \rightarrow 91 \rightarrow 92 \rightarrow 93 \rightarrow 11 \rightarrow 28$ の経路を提案した。その後かれら²³⁾は *in vivo* の実験で 93 から $11, 28, 33$ および $3\alpha, 6\beta$ -dihydroxy- 5β -cholanoic acid の生成を証明するとともに、*in vitro* でこの *in vivo* の変換を再現し 93 を中間体とする上記の推定経路を支持している。

4 お わ り に

10 年といえば、その歴史の流れを身近かに感じないわけにはゆかない。その 10 年間の研究史を背景にした胆ジュウ酸研究の進歩を限られた誌面にまとめること、それは著者の技でできるものではなかったことを痛感している次第で、またそれにも増して重要な文献の見落としや、先人の業績を誤り紹介した点多々あるのではないかと心配しているところである。読者諸賢の御しっ正を期待したい。

胆ジュウ酸をいわゆる天然物化学の対象としてみた場合、ここ 10 年間の進歩は決して多いものとは思われないが、胆ジュウ酸研究の進歩をその代謝論と物質論の両面よりながめるとき、だれもその大きな収穫を否定できないだろうし、また同時にその将来の研究に大きな期待がかけられていることも確実であろう。この意味から、著者は胆ジュウ酸の代謝調節機構、その比較生化学、あるいは ^{14}C や ^3H を含む基質の合成法の進歩などの記述は必すと考えたが誌面の関係で省略した。これらについては下記の適当な文献を参照していただきたい。また限られた誌面に 10 年間の史的事実を織り込もうとしたため、数字による物質名と、矢印による変換様式との代行が増え、その結果非常に読みにくいものになったことをおわびしたい。最後に執筆の機会を与えられた本誌編集委員のい友鈴木周一博士に深謝するとともに、著者のこの紹介がシ(斯)学同好の士に少しでも参考になることを願って筆をおきたい。

(昭和 45 年 5 月 21 日受理)

文 献

- 1) 早川 “脂質化学” (舟橋, 毛利, 原, 福場および松本編) I, p. 143 (1958), 共立出版, 東京
- 2) G.A.D. Haslewood “Ciba Foundation Symposium on Biosynthesis of Terpenes and Sterols” (G.E.W. Wolstenholme & C.M. O'Connor, eds.) p. 206 (1959), Little, Brown, Boston, Massachusetts
- 3) S. Bergström, H. Danielsson, B. Samuelsson “Lipide Metabolism” (K. Bloch, ed.) p. 291 (1960), John Wiley & Sons, New York
- 4) 奥田, 生化学, **33**, 193 (1961)
- 5) 山崎, 肝臓, **2**, 381 (1961)
- 6) G.A.D. Haslewood “Comparative Biochemistry” (M. Florin & H.S. Mason, eds.) III, A, p. 205 (1963), Academic Press, New York
- 7) H. Danielsson, *Advan. Lipid Res.*, **1**, 335 (1963)
- 8) G.A.D. Haslewood, *Biol. Rev.*, **39**, 537 (1964)
- 9) G.A.D. Haslewood, *Gastroenterol.*, **49**, 6 (1965)
- 10) H. Van Belle “Cholesterol, Bile Acids and Atherosclerosis” (1965) North-Holland Publishing Co. Amsterdam
- 11) 浦城, 医学のあゆみ, **54**, 1 (1965)
- 12) 清水, 最新医学, **20**, 393 (1965)
- 13) 数野, 総合臨床, **16**, 1071 (1967)
- 14) G.A.D. Haslewood “Bile Salts” (1967), Methuen, London
- 15) H. Danielsson, T. Tchen “Metabolic Pathways” (D.M. Greenberg, eds.) II, p. 117 (1967), Academic Press, New York
- 16) G.A.D. Haslewood, *J. Lipid Res.*, **8**, 535 (1967)
- 17) 山崎 “近代の生化学” (上代編) p. 257 (1968), 化学同人, 京都
- 18) 数野 “大有機化学” (小竹監修) Vol. 8, III, p. 390 (1958)
- 19) S. Lindstedt, J. Sjövall, *Acta Chem. Scand.*, **11**, 421 (1957)
- 20) H. Werbin, I.L. Chaikoff, M.R. Imada, *J. Biol. Chem.*, **237**, 2072 (1962)
- 21) H. Werbin, I.L. Chaikoff, B.P. Phillips, *Biochemistry*, **3**, 1558 (1964)
- 22) K.A. Mitropoulos, N.B. Myant, *Biochem. J.*, **103**, 472 (1967)
- 23) K.A. Mitropoulos, N.B. Myant, *Biochim. Biophys. Acta*, **144**, 430 (1967)
- 24) P.J. Thomas, S.L. Hsia, J.T. Matschiner, E.A. Doisy, Jr., W.H. Elliott, S.A. Thayer, E.A. Doisy, *J. Biol. Chem.*, **239**, 102 (1964)
- 25) H.J. Karavolas, W.H. Elliott, S.L. Hsia, E.A. Doisy, Jr., J.T. Matschiner, S.A. Thayer, E.A. Doisy, *J. Biol. Chem.*, **240**, 1568 (1965)
- 26) T. Hoshita, S. Shefer, E.H. Mosbach, *J. Lipid Res.*, **9**, 237 (1968)
- 27) T. Masui, F. Ueyama, H. Yashima, T. Kazuno, *J. Biochem.*, **62**, 650 (1967)
- 28) S. Bergström, H. Danielsson, T. Kazuno, *J. Biol. Chem.*, **235**, 983 (1960)
- 29) L. Peric-Golia, R.S. Jones, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **106**, 177 (1961); *ibid.*, **107**, 856 (1961)
- 30) H. Danielsson, K. Einarsson, *Acta Chem. Scand.*, **18**, 732 (1964)
- 31) B. Samuelsson, *Acta Chem. Scand.*, **13**, 976 (1959)
- 32) H. Danielsson, T. Kazuno, *Acta Chem. Scand.*, **13**, 1141 (1959)
- 33) S. Bergström, H. Danielsson, Å. Göransson, *Acta Chem. Scand.*, **13**, 776 (1959)
- 34) A. Kallner, *Acta Chem. Scand.*, **18**, 1502 (1964); *Arkiv Kemi*, **26**, 567 (1967)
- 35) S. Bergström, M. Rottenberg, J. Sjövall, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **295**, 278 (1953)
- 36) T.A. Mahowald, M.W. Yin, J.T. Matschiner, S.L. Hsia, E.A. Doisy, Jr., W.H. Elliott, E.A. Doisy, *J. Biol. Chem.*, **230**, 581 (1958)
- 37) B. Samuelsson, *Acta Chem. Scand.*, **13**, 236 (1959)
- 38) J. Sjövall, *Acta Chem. Scand.*, **13**, 711 (1959)
- 39) K. Einarsson, *J. Biol. Chem.*, **241**, 534 (1966)
- 40) G. Johansson, *Acta Chem. Scand.*, **20**, 240 (1966)
- 41) S. Lindstedt, *Arkiv Kemi*, **11**, 145 (1957)
- 42) O.W. Portman, *Arch. Biochem. Biophys.*, **78**, 125 (1958)
- 43) A. Norman, J. Sjövall, *J. Biol. Chem.*, **233**, 872 (1958)
- 44) S. Bergström, S. Lindstedt, B. Samuelsson, *J. Biol. Chem.*, **234**, 2022 (1959)
- 45) S. Lindstedt, B. Samuelsson, *J. Biol. Chem.*, **234**, 2026 (1959)
- 46) B. Samuelsson, *J. Biol. Chem.*, **235**, 361 (1960)
- 47) P. Eneroth, B. Gordon, R. Rhyhage, J. Sjövall, *J. Lipid Res.*, **7**, 511 (1966)
- 48) P. Eneroth, B. Gordon, J. Sjövall, *J. Lipid Res.*, **7**, 524 (1966)
- 49) B. Samuelsson, *Arkiv Kemi*, **15**, 425 (1960)
- 50) H. Danielsson, A. Kallner, J. Sjövall, *Acta Chem. Scand.*, **238**, 3846 (1963)
- 51) A. Kallner, *Acta Chem. Scand.*, **21**, 87 (1967); *ibid.*, **21**, 315 (1967)
- 52) A. Norman, J. Sjövall, *Acta Chem. Scand.*, **14**, 1815 (1960)
- 53) K. Hellström, J. Sjövall, *Acta Physiol. Scand.*, **51**, 218 (1961)
- 54) A.F. Hofman, E.H. Mosbach, *J. Biol. Chem.*, **239**, 2813 (1964)
- 55) A. Norman, *Brit. J. Nutr.*, **18**, 173 (1964)
- 56) O.W. Portman, S. Shah, A. Antonis, B. Jorgensen, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **109**, 959 (1962)
- 57) M.C. Cocucci, A. Ferrari, *Atti. Accad. Nazl. Lincei, Rend., Classe Sci. Fis., Mat. Nat.*, **36**, 851 (1964); *C.A.*, **62**, 10856 f (1965); *Ann. Microbiol. Enzimol.*, **15**, 157 (1965); *C. A.*, **65**, 12599 g (1966)
- 58) B.E. Gustafsson, T. Midtvedt, A. Norman, *J. Exp. Med.*, **123**, 413 (1966)
- 59) H. Danielsson, T. Tchen “Metabolic Pathways” (D.M. Greenberg, ed.) II, p. 152 (1967), Academic Press, New York
- 60) M.J. Hill, B.S. Drasar, *Biochem. J.*, **104**, 55 (1967)
- 61) 服部, 早川, 未発表
- 62) B.S. Drasar, M.J. Hill, M. Shiner, *Lancet*, No. **7449**, 1237 (1966)
- 63) P.P. Nair, M. Gordon, S. Gordon, J. Reback, A.I. Mendeloff, *Life Sci.*, **4**, 1887 (1965)
- 64) P.P. Nair, M. Gordon, J. Rebeck, *J. Biol. Chem.*, **242**, 7 (1967)
- 65) S. Hayakawa, K. Kurokawa, *Nature*, **199**, 490 (1963)
- 66) S. Hayakawa, B. Samuelsson, *J. Biol. Chem.*, **239**, 94 (1964)
- 67) S. Hayakawa, Y. Kanematsu, T. Fujiwara, *Nature*,

- 214, 520 (1967)
- 68) S. Hayakawa, Y. Kanematsu, T. Ichiba, T. Onaka, S. Hashimoto, T. Fujiwara, "Abstracts, 7th Int'l Congress of Biochem. Tokyo" p. 724 (1967)
 - 69) S. Hayakawa, S. Hashimoto, T. Onaka, T. Fujiwara, Symposium über Biochemische Aspekte der Steroidforschung, Jena, 18 bis 21 September 1967, Herausgegeben von Kurt Schubert, Akademie-Verlag GmbH Berlin, 印刷中
 - 70) P. Talalay, *Ann. Rev. Biochem.*, **34**, 347 (1965)
 - 71) L.O. Severina, I.V. Torgov, G.K. Skryabin, N.S. Wulfson, V.I. Zaretskii, I.B. Papernaja, *Tetrahedron*, **24**, 2145 (1968)
 - 72) J.T. Matschiner, T.A. Mahowald, W.H. Elliott, E.A. Doisy, Jr., S.L. Hsia, E.A. Doisy, *J. Biol. Chem.*, **225**, 771 (1957)
 - 73) K. Takeda, K. Igarashi, T. Komeno, *Pharm. Bull.*, **2**, 348 (1954)
 - 74) K. Takeda, T. Komeno, K. Igarashi, *Pharm. Bull.*, **2**, 352 (1954)
 - 75) S.L. Hsia, J.T. Matschiner, T.A. Mahowald, W.H. Elliott, E.A. Doisy, Jr., S.A. Thayer, E.A. Doisy, *J. Biol. Chem.*, **225**, 811 (1957); *ibid.*, **226**, 667 (1957)
 - 76) S.L. Hsia, J.T. Matschiner, T.A. Mahowald, W.H. Elliott, E.A. Doisy, Jr., S.A. Thayer, E.A. Doisy, *J. Biol. Chem.*, **230**, 573 (1958)
 - 77) H.B. Kagan, *Compt. rend. Acad.*, **244**, 1373 (1957)
 - 78) J.T. Matschiner, R.L. Ratcliffe, T.A. Mahowald, E.A. Doisy, Jr., W.H. Elliott, S.L. Hsia, E.A. Doisy, *J. Biol. Chem.*, **230**, 589 (1958)
 - 79) S.L. Hsia, J.T. Matschiner, T.A. Mahowald, W.H. Elliott, E.A. Doisy, Jr., S.A. Thayer, E.A. Doisy, *J. Biol. Chem.*, **230**, 597 (1958)
 - 80) S.L. Hsia, W.H. Elliott, J.T. Matschiner, E.A. Doisy, Jr., S.A. Thayer, E.A. Doisy, *J. Biol. Chem.*, **233**, 1337 (1958)
 - 81) S.L. Hsia, W.H. Elliott, J.T. Matschiner, E.A. Doisy, Jr., S.A. Thayer, E.A. Doisy, *J. Biol. Chem.*, **235**, 1963 (1960)
 - 82) K. Ohta, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **259**, 53 (1939)
 - 83) H. Isaka, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **266**, 117 (1940)
 - 84) I.G. Anderson, G.A.D. Haslewood, I.D.P. Wootton, *Biochem. J.*, **67**, 323 (1957)
 - 85) I.G. Anderson & G.A.D. Haslewood, *Biochem. J.*, **74**, 37 (1960); *ibid.*, **85**, 236 (1962)
 - 86) K. Takeda, T. Komeno, *J. Biochem.*, **41**, 385 (1954)
 - 87) G.A.D. Haslewood, *Biochem. J.*, **70**, 551 (1958)
 - 88) K. Takeda, K. Igarashi, *J. Biochem.*, **46**, 1313 (1959)
 - 89) G.A.D. Haslewood, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **90**, 877 (1960)
 - 90) T. Sasaki, *J. Biochem.*, **60**, 56 (1966)
 - 91) G.A.D. Haslewood, *Biochem. J.*, **78**, 352 (1961)
 - 92) K. Amimoto, *J. Biochem.*, **59**, 340 (1966)
 - 93) G.A.D. Haslewood "The Biliary System" (W. Taylor, ed.) p. 106 (1965), F.A. Davis Co. Philadelphia
 - 94) A.R. Tammer, *Biochem. J.*, **98**, 25 (1966)
 - 95) M. Yukawa, *Hiroshima J. Med. Sci.*, **11**, 167 (1962)
 - 96) D. Chakravarti, R.N. Chakravarti, M.N. Mitra, *Nature*, **193**, 1071 (1962)
 - 97) S.A. Ziller, Jr., M.N. Mitra, W.H. Elliott, *Chem. & Ind.*, **1967**, 999
 - 98) M.N. Mitra, W.H. Elliott, *J. Org. Chem.*, **33**, 175 (1968)
 - 99) A. Kallner, *Acta Chem. Scand.*, **21**, 322 (1967)
 - 100) Y.M.Y. Haddad, H.B. Henbest, J. Husbands, T.R. B. Mitchell, *Proc. Chem. Soc.*, **1964**, 361
 - 101) C. Djerassi, W. Klyne, *J. Chem. Soc.*, **1962**, 4229
 - 102) H. Budzikiewicz, C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 1430 (1962)
 - 103) O. Hammarsten, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **61**, 454 (1909); *ibid.*, **68**, 109 (1910)
 - 104) S. Bergström, L. Krabich, U.G. Lindeberg, *Acta Soc. Med. Upsal.*, **64**, 160 (1959)
 - 105) S. Kishi, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **238**, 210 (1936)
 - 106) F.C. Chang, N.F. Wood, W.G. Holton, *J. Org. Chem.*, **30**, 1718 (1965)
 - 107) T. Hoshita, S. Hirofujii, T. Sasaki, T. Kazuno, *J. Biochem.*, **61**, 136 (1967)
 - 108) T. Baba, *Proc. Japan Acad.*, **29**, 570 (1953)
 - 109) T. Hoshita, *J. Biochem.*, **46**, 507 (1959); *ibid.*, **46**, 1551 (1959)
 - 110) T. Hoshita, K. Okuda, T. Kazuno, *J. Biochem.*, **61**, 756 (1967)
 - 111) B.G. Collings, G.A.D. Haslewood, *Biochem. J.*, **99**, 50 (1966)
 - 112) Y. Inai, Y. Tanaka, S. Betsuki, T. Kazuno, *J. Biochem.*, **56**, 591 (1964)
 - 113) K. Okuda, T. Masui, T. Hoshita, T. Kazuno, *J. Biochem.*, **54**, 97 (1963)
 - 114) T. Hoshita, T. Sasaki, Y. Tanaka, S. Betsuki, T. Kazuno, *J. Biochem.*, **57**, 751 (1965)
 - 115) K. Amimoto, T. Hoshita, T. Kazuno, *J. Biochem.*, **57**, 565 (1965)
 - 116) 奥田, M.G. Horning, E.C. Horning "第8回日本脂質生化学研究会予講集" p. 75 (1966)
 - 117) T. Hoshita, *J. Biochem.*, **52**, 125 (1962)
 - 118) P.D.G. Dean, M.W. Whitehouse, *Biochem. J.*, **99**, 9 (1966)
 - 119) P.D.G. Dean, R.T. Aplin, *Steroids*, **8**, 565 (1966)
 - 120) S. Okada, T. Masui, T. Hoshita, T. Kazuno, *J. Biochem.*, **51**, 310 (1962)
 - 121) G.A.D. Haslewood, *Biochem. J.*, **51**, 139 (1952)
 - 122) A.D. Cross, *Proc. Chem. Soc.*, **1960**, 344; *J. Chem. Soc.*, **1961**, 2817
 - 123) R.J. Bridgwater, T. Briggs, G.A.D. Haslewood, *Biochem. J.*, **82**, 285 (1962)
 - 124) K. Okuda, T. Hoshita, T. Kazuno, *J. Biochem.*, **51**, 48 (1962)
 - 125) T. Hoshita, S. Hirofujii, T. Nakagawa, T. Kazuno, *J. Biochem.*, **62**, 62 (1967)
 - 126) R.J. Bridgwater, G.A.D. Haslewood, J.R. Watt, *Biochem. J.*, **87**, 28 (1963)
 - 127) G.A.D. Haslewood, *Biochem. J.*, **59**, XI (1955)
 - 128) T. Briggs, G.A.D. Haslewood, *Biochem. J.*, **82**, 26 (1962)
 - 129) T. Hoshita, S. Nagayoshi, T. Kazuno, *J. Biochem.*, **54**, 369 (1963)
 - 130) I.G. Anderson, T. Briggs, G.A.D. Haslewood, *Biochem. J.*, **90**, 303 (1964)

- 131) A.D. Cross, *Biochem. J.*, **90**, 308 (1964)
- 132) T. Hoshita, M. Kouchi, T. Kazuno, *J. Biochem.*, **53**, 291 (1963)
- 133) T. Hoshita, M. Yukawa, T. Kazuno, *Steroids*, **4**, 569 (1964)
- 134) T. Hoshita, T. Sasaki, T. Kazuno, *Steroids*, **5**, 241 (1965)
- 135) H. Makino, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **220**, 49 (1933)
- 136) G.A.D. Haslewood, *Biochem. J.*, **90**, 309 (1964)
- 137) A.D. Cross, *Biochem. J.*, **90**, 314 (1964)
- 138) T. Kazuno, T. Masui, T. Nakagawa, K. Okuda, *J. Biochem.*, **53**, 331 (1963)
- 139) T. Kazuno, T. Masui, K. Okuda, *J. Biochem.*, **57**, 75 (1965)
- 140) G.A.D. Haslewood, *Biochem. J.*, **66**, 22 (1957)
- 141) I.G. Anderson, G.A.D. Haslewood, *Biochem. J.*, **93**, 34 (1964)
- 142) G.A.D. Haslewood, *Biochem. J.*, **78**, 30 (1961)
- 143) G.A.D. Haslewood, *Biochem. J.*, **100**, 233 (1966)
- 144) A.D. Cross, *Biochem. J.*, **100**, 238 (1966)
- 145) I.G. Anderson, G.A.D. Haslewood, A.D. Cross, L. Tökés, *Bioch. J.*, **104**, 1061 (1967)
- 146) T. Kazuno, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **266**, 11 (1940)
- 147) K. Bloch, B.N. Berg, D. Rittenberg, *J. Biol. Chem.*, **149**, 511 (1943)
- 148) S. Bergström, S. Lindstedt, *Biochim. Biophys. Acta*, **19**, 556 (1956)
- 149) R.J. Bridgwater, S. Lindstedt, *Acta Chem. Scand.*, **11**, 409 (1957)
- 150) K. Shimizu, T. Fujioka, M. Otagaki, K. Yamasaki, *Yonago Acta Med.*, **3**, 158 (1959)
- 151) H. Danielsson, T. Kazuno, *Acta Chem. Scand.*, **18**, 1157 (1964)
- 152) O. Berséus, H. Danielsson, A. Kallner, *J. Biol. Chem.*, **240**, 2396 (1965)
- 153) I. Björkhem, *Acta Chem. Scand.*, **21**, 2561 (1967)
- 154) S. Lindstedt, *Acta Chem. Scand.*, **11**, 417 (1957)
- 155) H. Danielsson, *Arkiv Kemi*, **17**, 363 (1961)
- 156) H. Danielsson, *Acta Chem. Scand.*, **15**, 242 (1961)
- 157) I. Björkhem, H. Danielsson, C. Issidorides, A. Kallner, *Acta Chem. Scand.*, **19**, 2151 (1965)
- 158) H. Danielsson, *Acta Chem. Scand.*, **15**, 431 (1961)
- 159) I. Björkhem, H. Danielsson, *Europ. J. Biochem.*, **2**, 403 (1967)
- 160) R.J. Bridgwater, 未発表 (Danielsson ら¹⁵³ の総説による)
- 161) H. Danielsson, *Arkiv Kemi*, **17**, 373 (1961)
- 162) O. Berséus, H. Danielsson, *Acta Chem. Scand.*, **17**, 1293 (1963)
- 163) R.G. Bell, S.L. Hsia, J.T. Matschiner, E.A. Doisy Jr., W.H. Elliott, S.A. Thayer, E.A. Doisy, *J. Biol. Chem.*, **240**, 1054 (1965)
- 164) E. Staple, J.L. Rabinowitz, *Biochim. Biophys. Acta*, **59**, 735 (1962)
- 165) J.B. Carey, Jr., *J. Clin. Invest.*, **43**, 1443 (1964)
- 166) S. Bergström, R.J. Bridgwater, U. Gloor, *Acta Chem. Scand.*, **11**, 836 (1957)
- 167) D. Mendelsohn, L. Mendelsohn, E. Staple, *Biochemistry*, **5**, 3194 (1966)
- 168) C.B. Anfinsen, Jr., M.G. Horning, *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 1511 (1953)
- 169) M.G. Horning, D.S. Fredrickson, C.B. Anfinsen, *Arch. Biochem. Biophys.*, **71**, 266 (1957)
- 170) M.W. Whitehouse, E. Staple, S. Gurin, *J. Biol. Chem.*, **234**, 276 (1959)
- 171) M.W. Whitehouse, E. Staple, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **101**, 439 (1959)
- 172) M.W. Whitehouse, J.L. Rabinowitz, E. Staple, S. Gurin, *Biochim. Biophys. Acta*, **37**, 382 (1960)
- 173) M.W. Whitehouse, E. Staple, S. Gurin, *J. Biol. Chem.*, **236**, 68 (1961)
- 174) D.S. Fredrickson, *J. Biol. Chem.*, **222**, 109 (1956)
- 175) K. Yamasaki, F. Noda, K. Shimizu, *J. Biochem.*, **46**, 739, 747 (1959)
- 176) H. Danielsson, *Acta Chem. Scand.*, **14**, 348 (1960)
- 177) H.M. Suld, E. Staple, S. Gurin, *J. Biol. Chem.*, **237**, 338 (1962)
- 178) D. Mendelsohn, E. Staple, *Biochemistry*, **2**, 577 (1963)
- 179) H. Danielsson, *Acta Chem. Scand.*, **16**, 1534 (1962)
- 180) H. Danielsson, K. Einarsson, *Acta Chem. Scand.*, **18**, 831 (1964)
- 181) D. Mendelsohn, L. Mendelsohn, E. Staple, *Biochim. Biophys. Acta*, **97**, 379 (1965)
- 182) O. Berséus, H. Danielsson, A. Kallner, *J. Biol. Chem.*, **240**, 2396 (1965)
- 183) H. Danielsson, K. Einarsson, *J. Biol. Chem.*, **241**, 1449 (1966)
- 184) O. Berséus, H. Danielsson, K. Einarsson, *J. Biol. Chem.*, **242**, 1211 (1967)
- 185) D. Mendelsohn, L. Mendelsohn, E. Staple, *Biochemistry*, **4**, 441 (1965); *ibid.*, **5**, 1286 (1966)
- 186) G.S. Boyd, *Federation Proc.*, **21**, Supple. 11, 86 (1962)
- 187) H.B. Hutton, G.S. Boyd, *Biochim. Biophys. Acta*, **116**, 336, 362 (1966)
- 188) K.A. Mitropoulos, N.B. Myant, *Biochem. J.*, **94**, 594 (1965)
- 189) K. Okuda, H. Danielsson, *Acta Chem. Scand.*, **19**, 2160 (1965)
- 190) R. Herman, E. Staple, *Federation Proc.*, **24**, 661 (1965)
- 191) T. Masui, R. Herman, E. Staple, *Biochim. Biophys. Acta*, **117**, 266 (1966)
- 192) T. Masui, E. Staple, *J. Biol. Chem.*, **241**, 3889 (1966)
- 193) O. Berséus, *Acta Chem. Scand.*, **19**, 325 (1965)
- 194) K.A. Mitropoulos, N.B. Myant, *Biochem. J.*, **97**, 26 (1965)
- 195) J.B. Carey, Jr., G.A.D. Haslewood, *J. Biol. Chem.*, **238**, PC 855 (1963)