魚類より Lutein の 3'-Epimer (Calthaxanthin, 3'-Epilutein) の分離および確認^{*1}

松野隆男・松高寿子
勝山政明・永田誠一

(1979 年 10 月 5 日受理)

Occurrence of 3'-Epimer of Lutein (Calthaxanthin, 3'-Epilutein) from Fishes^{*1}

Takao MATSUNO^{*2}, Hisako MATSUTAKA^{*2}, Masaaki KATSUYAMA^{*2}
and Seiichi NAGATA^{*2}

The two stereoisomeric β , ϵ -carotene-3, 3'-diol were isolated from lutein fraction of the integuments in various fishes (44 species). These carotenoids were identified as lutein and 3'-epilutein (calthaxanthin) by two direct thin-layer chromatographic comparison with authentic lutein, natural calthaxanthin, synthetic lutein and synthetic 3'-epilutein.

Lutein fraction, which has hitherto been identified as a single carotenoid, was a mixture of two stereoisomers, lutein and 3'-epilutein.

From the experimental results about lutein fraction from extensive species of fishes, 3'-epilutein was generally dominant in the integuments although the ratio of lutein to 3'-epilutein varied to the species of fish.

近年カロテノイドに関しても立体化学的研究がさかんにおこなわれ、すでに数十種におよぶカロテノイドの絶対構造が明らかにされている。しかしながら魚類カロテノイドについての立体化学的研究はまだほとんどみられない状態である。

そこで著者らは、理論的に立体異性体が考えられる lutein (β , ϵ -carotene-3, 3'-diol) に着目し、一部はすでに本誌上で発表¹⁾のごとく従来魚類より lutein として分離、同定されていた画分について検討の結果、lutein 画分は単一物ではなく二つの立体異性体の混合物であることを明らかにした。本報告ではこれら二つの立体異性体の同定、ならびに海産 10 魚種、汽水産 3 魚種、淡水産 31 魚種、計 44 魚種の lutein 画分における二つの立体異性体の存在比についてしらべたのでこれらについて報告する。

実験方法

Lutein 画分の分離 本誌上に前報までに報告されている方法²⁾と全く同様に抽出および分離をおこない、えられた画分はすでに報告されているように silica gel G, (30% acetone/p.e.) の TLC で単一スポット (R_f 値 0.40) を示すものである。

標品 lutein および calthaxanthin の分離 lutein はセイヨウタンポポ *Taraxacum officinale*³⁾ または

"Xanthophyll" (半井化学薬品(株)製) より、calthaxanthin は *Caltha palustris* の花卉⁴⁾よりそれぞれ文献記載の方法に従って抽出、分離した。

3'-Epilutein の合成 Fig. 1 に示したごとく結晶 lutein 1 mg を用い LIAAEN-JENSEN らの方法⁵⁾に従って過酸化ニッケルで酸化し、えられる 3-hydroxy-3'-keto- α -carotene を preparative TLC (silica gel G, benzene : acetone=1 : 1) で単離 (収率 0.8% 以下) 後、 NaBH_4 で還元し、lutein と 3'-epilutein をえた。

結果および考察

Silica gel G, (30% acetone/p.e.) の TLC で単一スポットを与える画分を塩基性炭酸マグネシウムで再度 TLC (15% acetone/p.e.) をおこなったところ、Fig. 2 に示したごとく二つの成分 (1') および (1'') に分かれた。

(1') および (1'') の可視部吸収スペクトル (λ_{max} , 421, 444, 473 nm in p.e.) は all *trans*-lutein と全く同じであり *cis*-lutein (λ_{max} , 419, 440, 468 nm in p.e.) とは異なっていた。またそれぞれ monomethylether および diacetate を与えたので OH 基は 2 個、しかもそのうち 1 個は allyl 位に存在することがわかった。以上のことより (1') および (1'') は同じ平面構造 β , ϵ -carotene-3, 3'-diol を持ち、お互いに diastereomer であること

^{*1} 魚類のカロテノイドに関する比較生化学的研究—XVII (Comparative Biochemical Studies of Carotenoids in Fishes—XVII).

^{*2} 京都薬科大学 (Kyoto College of Pharmacy, Misasagi, Yamashina-ku, Kyoto 607, Japan).

Fig. 1. The synthetic procedure of lutein and 3'-epilutein from lutein.

Fig. 2. Thin-layer chromatograms of lutein fraction from the integuments of fishes compared with authentic samples on $\text{Mg}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3$ with 15% acetone in pet. ether.

(1): lutein fraction from the integuments of fishes, (2): all *trans*-lutein from *Taraxacum officinale*, (3): *cis*-isomer of lutein isomerized with iodine, (4): calthaxanthin from *Caltha palustris*, (5): synthetic lutein, (6): synthetic 3'-epimer of lutein (3'-epilutein).

が予想された。

そこでこの点を確かめるべく次の二つの実験をおこなった。まず標品 all *trans*-lutein [(2), Fig. 2] およびこれをヨウ素で処理して生じる *cis*-lutein [(3), Fig. 2] を (1') および (1'') と co-TLC をおこなったところ (1') は all *trans*-lutein (2) に一致した。また (1') をヨウ素で処理すると *cis*-lutein (3) に一致するスポットがえられた。ところが (1'') は all *trans*-lutein (2) および *cis*-lutein (3) いずれとも一致しなかった。(1'') の TLC 上における挙動は、DABBACH ら⁴⁾が *Caltha palustris* の花卉より分離した calthaxanthin の性質に非常によく似ていたので、上記植物より calthaxanthin の標品 [(4), Fig. 2] をえて直接比較した結果 (1'') は calthaxanthin (4) に一致した (Fig. 2)。次に Fig. 1 に示したような方法で合成的に lutein [(5), Fig. 2] と 3'-epilutein [(6), Fig. 2] をえてこれらを (1') および (1'') と co-TLC をおこなったところ、(1') は lutein (5) に、(1'') は 3'-epilutein (6) にそれぞれ一致した (Fig. 2)。以上二つの実験結果から (1') は lutein, (1'') は 3'-epilutein (calthaxanthin) と同定した。

Fig. 3. The absolute configurations of lutein and calthaxanthin (3'-epilutein).

Table 1. Ratio of lutein to 3'-epilutein in lutein fraction from the integuments of fishes

Species of fishes	Lutein : 3'-Epilutein		
Brook trout, <i>Salvelinus fontinalis</i> (♂)	1.0	:	1.0
" " " " (♀)	1.0	:	5.0
Lake trout, <i>S. namaycush</i>	1.0	:	2.0
White-spotted char, <i>S. leucomaenis</i>	1.0	:	7.0
Japanese char, <i>S. leucomaenis</i> f. <i>pluvius</i>	1.0	:	9.0
Rainbow trout, <i>Salmo gairdneri</i>	3.0	:	7.0
brown trout, <i>S. trutta</i>	1.0	:	2.0
Masu salmon, <i>Oncorhynchus masou masou</i>	1.0	:	9.0
Masu trout, <i>O. masou masou</i>	1.0	:	9.0
Red-spotted masu salmon, <i>O. masou macrostomus</i>	2.0	:	8.0
Red-spotted masu trout, <i>O. masou macrostomus</i>	1.0	:	9.0
Rosyface dace, <i>Leuciscus ezoe</i>	2.0	:	8.0
Lakeweed chub, <i>Ischikauia steenackeri</i>	2.0	:	8.0
Black stripe gudgeon, <i>Pungtungia herzi</i>	2.0	:	8.0
Pike gudgeon, <i>Pseudogobio esocinus</i>	2.0	:	8.0
Carp, <i>Cyprinus carpio</i> (wild type)	0.0	:	1.0
" " " (cultured)	2.0	:	8.0
Golden crucian carp, <i>Carassius carassius buergeri</i>	3.5	:	6.5
Round crucian carp, <i>C. carassius grandoculis</i>	2.0	:	8.0
Deep-bodied crucian carp, <i>C. cuvieri</i>	2.0	:	8.0
Silver crucian carp, <i>C. gibelio langsdorfi</i>	3.0	:	7.0
Goldfish, <i>C. auratus</i>	3.0	:	7.0
Mud loach, <i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	0.5	:	9.5
Red mud loach, <i>M. anguillicaudatus</i>	0.5	:	9.5
Piranha, <i>Serrasalmo nattereri</i>	0.5	:	9.5
Japanese common catfish, <i>Parasilurus asotus</i>	7.0	:	3.0
Chinese snakehead, <i>Channa argus</i>	1.0	:	9.0
Swamp eel, <i>Monopterus albus</i>	0.5	:	9.5
Bluegill, <i>Lepomis macrochirus</i>	1.0	:	9.0
Tilapia, <i>Tilapia nilotica</i>	9.5	:	0.5
Flamingo cichlid, <i>Cichlosoma citrinellum</i>	5.5	:	4.5
Red devil, <i>C. elisatum</i>	5.5	:	4.5
Common freshwater goby, <i>Rhinogobius brunneus</i>	1.0	:	9.0
Striped mullet, <i>Mugil cephalus</i>	1.0	:	1.0
Marbled eel, <i>Anguilla marmorata</i>	1.0	:	9.0
Striped pigfish, <i>Parapristipoma trilineatum</i>	4.5	:	5.5
Mackerel, <i>Pneumatophorus japonicus</i>	0.0	:	1.0
Horse mackerel, <i>Trachurus japonicus</i>	0.0	:	1.0
Yellowtail, <i>Seriola quinqueradiata</i>	t.	:	1.0
Red sea bream, <i>Chrysophrys major</i>	3.5	:	6.5
Red tilefish, <i>Branchiostegus japonicus japonicus</i>	8.0	:	2.0
Filefish, <i>Amanes (navodon) modestus</i>	0.0	:	1.0
Wrasse, <i>Halichoeres tenuispinis</i>	3.0	:	1.0
Japanese stingfish, <i>Sebastes inermis</i>	0.0	:	1.0
Flatfish, <i>Limanda yokohamae</i>	t.	:	1.0
Moray eel, <i>Gymnothorax kidako</i>	9.0	:	1.0

淡水魚, 海産魚を問わず 44 魚種の lutein 画分について検討したところ, ほとんどの魚種の lutein 画分に lutein と 3'-epilutein が共存していた (Table 1)。このように著者らをふくめ多くの研究者によつて lutein 単一物として同定されていたものは, 実は二つの立体異性体, すなわち lutein と 3'-epilutein の混合物であり,

その組成比は魚種により多少異なるが二, 三の例外を除いて 3'-epilutein が多いと結論できる。

なお魚類における lutein の立体異性体の存在に関しては現在のところ 1978 年 BUCHECKER ら⁹⁾が金魚に 3'-epilutein の存在を報告しているのみである。

要 約

1. 従来単一物として分離、同定されていた魚類の lutein 画分について検討の結果、この画分は β , ϵ -carotene-3, 3'-diol の二つの立体異性体、すなわち lutein および 3'-epilutein (calthaxanthin) の混合物であることをみとめた。

2. これら二つの立体異性体は lutein および calthaxanthin の標品と、さらに 3-hydroxy-3'-keto- α -carotene より合成的に還元してえた lutein および 3'-epilutein とそれぞれ直接比較同定した。

3. 44 魚種の lutein 画分について検討の結果、ほとんどすべての魚種の lutein 画分には lutein と 3'-epilutein が共存しておりその組成比は魚種により差がみられ二、三の例外を除いて 3'-epilutein が主成分であった。

Calthaxanthin (3'-epilutein) の標品を抽出するにあたり含有植物 *Caltha palustris* を心よく分与下さった

東海区水産研究所生物化学部長平尾秀一博士に深謝いたします。また試料採捕に協力された諸氏に感謝いたします。また本実験の一部を分担された大学院生真岡孝至氏に感謝します。

文 献

- 1) T. MATSUNO, H. MATSUTAKA, M. KATSUYAMA, and S. NAGATA: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **46**, 113 (1980).
- 2) 松野隆男・勝山政明・岩崎修久: 日水誌, **41**, 351-355 (1975).
- 3) R. KUHN and E. LEDERER: *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **200**, 108-114 (1931).
- 4) A.G. DABBACH and K. EGGER: *Z. Pflanzenphysiol.*, **72**, 177-180 (1974).
- 5) S. LIAAEN-JENSEN and S. HERTZBERG: *Acta Chem. Scand.*, **20**, 1703-1709 (1966).
- 6) R. BUCHECKER, C.H. EUGSTER, and A. WEBER: *Helv. Chim. Acta*, **61**, 1962-1968 (1978).