

(S)- および (R)-Equol-diglucuronide の化学合成と ヒト血漿中における同定

宮崎 友美 三上 和羽 細田 香織
石井 和夫

杏林大学保健学部臨床薬理学教室

目的

近年、大豆イソフラボンはホルモン依存性がんや骨粗しょう症の予防に有用であるとされ、多くの注目を集めている。一般にイソフラボンの生理活性本体は、アグリコン (daidzein, genistein) に加えて、equol であるとされる。equol は、腸内細菌により daidzein から生成する女性ホルモン作用の強い代謝物である。equol には (S)- および (R)- の diastereomer が存在するが、腸内細菌は (S)-equol を限定的に生成するとの報告がある。既に我々は、daidzein が血液中で主にグルクロン酸や硫酸の二重抱合体として存在することを報告した。本研究では、equol の体内動態把握の一環として、UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGT) により生成されるグルクロン酸の二重抱合体 (S)- および (R)-equol-diglucuronide (diG) を化学合成し、ヒト血漿中での equol-diG の同定を試みた。なお、本研究はヘルシンキ宣言のガイドラインに基づいた杏林大学保健学部倫理審査委員会の承認を受けたものである。

方法

化学合成した 2 種の equol-diG をそれぞれ分離精製し、LC-MS/MS 分析により構造確認した。2 種の equol-diG を酵素水解して、得られた equol をキラルカラム (Chiralcel OJ-3R, 150 × 4.6 mm I.D., 3 μm) を用いて構造確認した。さらに、きな粉 10 g 摂取後の女性被験者における血漿中 equol-diG を HPLC にて測定した。

結果及び考察

LC-MS/MS 分析により、化学合成した 2 種が equol-diG であることを確認した。これを β-glucuronidase により脱抱合し、キラルカラムで分離した結果、(S)- および (R)-equol 標品と保持時間が完全に一致した。以上のこ

とから、合成品は、(S)- および (R)-equol-diG であることを確認した。きな粉摂取後の被験者の血漿を HPLC 分析した結果、クロマトグラム上にほぼ同量の (S)- および (R)-equol-diG に相当するピークが検出された。これまでヒト血漿中には (S)-equol のみが存在すると報告されているため、今後、LC-MS 分析により (R)-equol-diG に相当するピークの化学構造を同定する予定である。

学会発表での質疑応答

equol の生理活性は S 体についての報告が多い中、我々の (R)-equol-diG の発見はインパクトのある報告であったため、製薬および食品関係者からの質疑が多かった。

本稿は、学生リサーチ賞及びトラベルアワードを拝受し、平成 24 年 3 月 28 ~ 31 日に開催された日本薬学会第 132 年会 (札幌) に於いて発表した内容をまとめたものである。学会発表は、著者にとって貴重な経験となり、非常に有意義なものとなった。

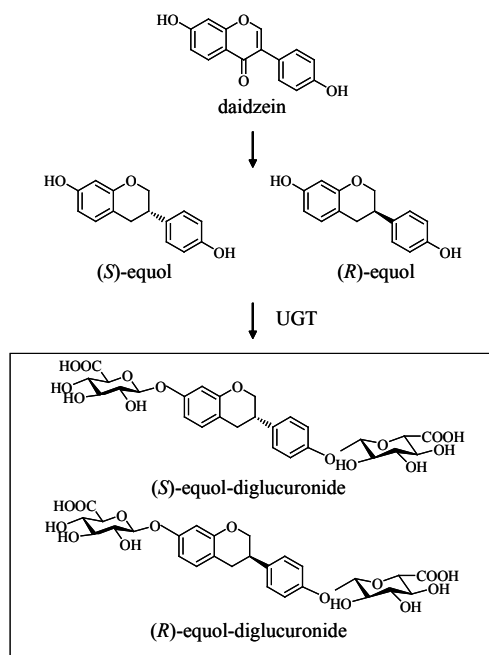


Fig. 1 Plausible metabolic pathway of daidzein.

Key words: (S)-equol, (R)-equol, diglucuronide

平成 23 年度 学生リサーチ賞・トラベルアワード 受賞者寄稿