



Title	Thiamine anhydrideおよびCyanothiamineに関する研究
Author(s)	元山, 正
Citation	大阪大学, 1962, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/28551">https://hdl.handle.net/11094/28551</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

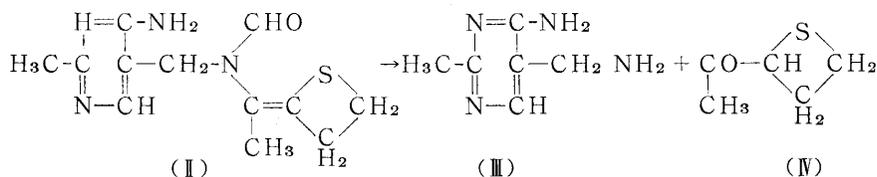
The University of Osaka

【 5 】

氏名・(本籍)	元 山 正 もと やま ただし
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	第 313 号
学位授与の日付	昭 和 37 年 4 月 16 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	Thiamine anhydride および Cyanothiamine に 関する研究
	(主 査) (副 査)
論文審査委員	教 授 川崎近太郎 教 授 羽野 寿 教 授 上原喜八郎 教 授 青沼 繁

論 文 内 容 の 要 旨

(1) B<sub>1</sub> にアルカリ性で Benzenesulfonyl chloride を作用させて得られる mp 113~4°C の結晶は結晶水を 1 分子含み、乾燥すると mp 136~137°C となり、B<sub>1</sub> の脱水物に分析値が一致するので、Thiamine anhydride と命名した。塩酸による加水分解により 2-Methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine (Ⅲ) と義酸およびエーテル可溶性の油分を分離し、油分の分溜で bp<sub>4</sub> 41~42°C, bp<sub>4</sub> 121~123°C に分け、前者は C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>OS(Ⅳ) に一致する。Thiamine anhydride の構造はチオール型 B<sub>1</sub> の脱水した (Ⅱ) 式を推定した。



(2) Thiamine anhydride が生体内で B<sub>1</sub> に復帰するかを in vitro ならびに in vivo で検討した。B<sub>1</sub> 関連化合物で B<sub>1</sub> 作用を持つものの多くは肝臓切片、タカジアスターゼ等によって B<sub>1</sub> に復帰するが、Thiamine anhydride はタカジアスターゼによる B<sub>1</sub> 復帰はみられない。肝臓片による Thiamine anhydride の B<sub>1</sub> 復帰は僅かにみられた。1/200 程度の復帰率である。シロネズミによる B<sub>1</sub> 欠乏症予防試験、B<sub>1</sub> 欠乏治療試験により Thiamine anhydride の B<sub>1</sub> 効果を調べた結果、B<sub>1</sub> の 1/100~1/200 の効力を示した。これに用いた Thiamine anhydride については B<sub>1</sub> または Thiamine disulfide の夾雑が認められないので、Thiamine anhydride そのものが動物体内で僅かながら B<sub>1</sub> 効力を示すものと考えられる。しかし微生物測定法による B<sub>1</sub> 活性が B<sub>1</sub> の 1/25,000 以下である点と対比して、生物体で Thiamine anhydride が加水開環して B<sub>1</sub> へ復帰することはほとんど起らないものと考えるのが適当であろう。

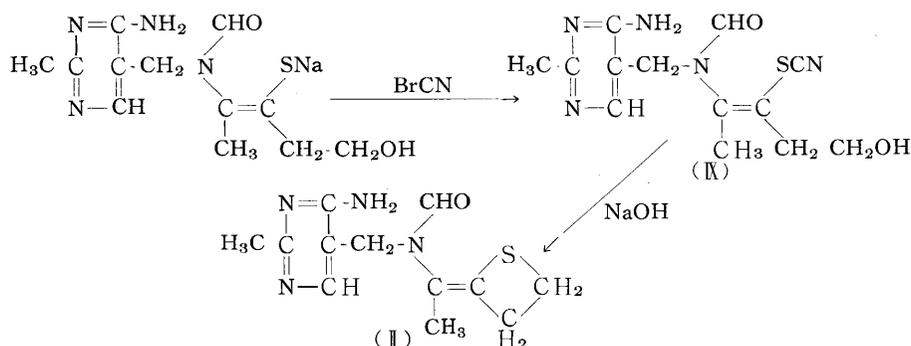
(3) Thiamine anhydride を H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> で酸化して得られる Thiamine anhydride sulfoxide および Thiamine

anhydride sulfone について生物学的効果を検討したが、B<sub>1</sub>効力は認められず、毒性も B<sub>1</sub>よりも低いことがわかった。Thiamine anhydride および Thiamine anhydride sulfone の B<sub>1</sub> に対する拮抗作用をシロネズミによる B<sub>1</sub> 欠乏症予防試験により調べたが、Thiamine anhydride またはその sulfone を B<sub>1</sub> に対して 100 倍量与えたのでは Antivitamin 作用が認められなかった。

(4) B<sub>1</sub> 要求菌である *Lactobac. fermenti*-36 を用い Thiamine anhydride, Thiamine anhydride sulfone の B<sub>1</sub> 活性を検すると Thiamine anhydride は B<sub>1</sub> の 1/25,000 ~ 1/40,000 で、Sulfone 体は B<sub>1</sub> 活性を示さず、また B<sub>1</sub> に対する代謝拮抗もみとめられなかった。Thiamine anhydride の加水分解により得られる 2-Methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine (Ⅲ) は *Sacch. carlsbergensis* に対し B<sub>6</sub> との弱い拮抗を示す。Thiamine anhydride は (Ⅲ) に比べさらに弱い B<sub>6</sub> との代謝拮抗を示したが、これは培養中に Thiamine anhydride が分解し、Thiamine anhydride → 2-Methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine (Ⅲ) によるものと考えられる。

(5) Thiamine anhydride をシロネズミに経口投与し、尿中代謝産物を Amberlite IRC-50 を用いて精製し、PPC により 2-Methyl-4-amino-5-aminomethyl pyrimidine (Ⅲ) を Picrate として分離し、PPC, 混融, 元素分析, 赤外線スペクトルにより 2-Methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine picrate であることを証明した。

(6) B<sub>1</sub> にアルカリ性で BrCN を作用させた時に得られる Cyanothiamine (Ⅸ) をアルカリ性にするると Thiamine anhydride (Ⅱ) が生成されることが明らかにされているので、その生成条件について検討し、pH 11 以上で Thiamine anhydride になることを認め、この反応は Cyanothiamine の定性反応に利用できることを知った。



(7) Cyanothiamine が B<sub>1</sub> 効力を持つことから、Cyanothiamine の B<sub>1</sub> 復帰について検討した。

Cyanothiamine はシステインによって B<sub>1</sub> に復帰するので、その条件を調べ pH5 にて 150 Mol のシステインにより 37°C, 1 時間反応させ常法により B<sub>1</sub> を測定する Cyanothiamine の定量法を定めた。

Cyanothiamine がタカジアスターゼにより B<sub>1</sub> に復帰することを知り検討した結果、タカジアスターゼ中の酵素によるものではなく、タカジアスターゼに附着する菌によりシステインその他 -S-S-化合物を還元し、システインあるいは -SH 化合物とし、それによって Cyanothiamine から B<sub>1</sub> が復帰することを明らかにした。

(8) また肝臓による Cyanothiamine から B<sub>1</sub> の復帰も、肝臓 homogenate を加熱し、その上澄液によって

も起ることから、肝臓中の酵素によるものではなく、肝臓中に含まれる非酵素因子（システイン、グルタチオンなど）による還元作用によることがわかった。

(9) Cyanothiamine の LD 50 を調べると、経口投与の際は KCN よりも毒性が弱いから、静注、皮下注の際は CNT に含まれる  $\text{CN}^-$  量と KCN 中の  $\text{CN}^-$  量とがほぼ等しい毒性を示し、Cyanothiamine は注射時には容易に  $\text{B}_1 + \text{CN}^-$  になることがわかった。

Cyanothiamine および  $\text{B}_1$  をシロネズミに経口ならびに皮下注射した際の尿中  $\text{B}_1$  排泄量はほとんど差を見出されない。Cyanothiamine および  $\text{B}_1$  をネズミに皮下注射した際の血液  $\text{B}_1$  濃度は、Cyanothiamine 群が非常に大きいことがわかった。Cyanothiamine は血液中で容易に  $\text{B}_1$  に復帰し血漿では復帰し難い。これは血液中のグルタチオンの分布によるものである。

Cyanothiamine をウサギに静注し、血液中の  $\text{B}_1$  量を調べると、30分～1時間後に血漿ならびに血球中に増加し、特に血球中に著しい。Cyanothiamine の血球移行率は約20%で、Thiamine propyldisulfide の約  $\frac{1}{2}$  の移行比であるが、 $\text{B}_1$  に比べ良好である。従って Cyanothiamine は  $\text{B}_1$  に比べ血球移行が強く、血球中  $\text{B}_1$  量が増加するため、注射後1時間の血液  $\text{B}_1$  量に差を生じたものである。これらの代謝実験により CNT の  $\text{B}_1$  復帰ならびに KCN との毒性を比較して経口時の毒性の弱い点をよく説明できる。

### 論文の審査結果の要旨

本論文はアルカリ性においてビタミン  $\text{B}_1$  にベンゼンスルホニルクロライドを作用させ生成する Thiamine-anhydride (I) 及び同じくプロムシアンを作用させ生成する Cyanothiamine (II) に関し衛生化学的な追究を行ない次の諸点を明らかにした研究である。

1) Thiamine-anhydride (I) は塩酸により容易に加気分解され、2-Methyl-4-amine-5-aminomethylpyrimidine (III) と義酸と硫黄を含む油状物質とが得られ、(I) はチオール型ビタミン  $\text{B}_1$  の脱水した形の化合物であることを明らかにした。(I) から  $\text{B}_1$  への復帰は肝臓切片ではほとんど起らず、シロネズミによる  $\text{B}_1$  欠乏症予防試験または治療試験で  $\text{B}_1$  の  $\frac{1}{100} \sim \frac{1}{200}$  の効力を示したが、乳酸菌による微生物測定法では  $\text{B}_1$  の  $\frac{1}{25,000}$  以下の効力であった。

2) (I) の酸化体スルホオキシドまたはスルホンはシロネズミ、乳酸菌に  $\text{B}_1$  活性を示さず、 $\text{B}_1$  拮抗作用をも示さない。(I) はビタミン  $\text{B}_6$  要求酵母菌に対し僅かに  $\text{B}_6$  拮抗作用を示した。

3) (I) をシロネズミ、ウサギに経口投与し尿中代謝産物として 2-Methyl-4-amine-5-aminomethylpyrimidine (III) を証明した。

4) Cyanothiamine (II) の定量条件を研究しアルカリによる (I) の生成、システインによるビタミン  $\text{B}_1$  の生成を利用し生体内の変化を追究した。(II) をシロネズミに経口投与すると尿中の  $\text{B}_1$  排泄量の少い点、(II) の皮下注射時は  $\text{B}_1$  注射時に比べ  $\text{B}_1$  排泄の遅延が見られる点及び (II) の血球への移行ならびに  $\text{B}_1$  への復帰を明らかにし経口投与時 (II) が対応量の KCN 投与より毒性の弱い点が解明された。

以上のごとく本論文は Thiamine-anhydride 及び Cyanothiamine の性状と生体内変化とを明らかにしてビタミン  $\text{B}_1$  との関連を解明したもので、博士論文としての価値あるものと認める。