



Title	Thiamine誘導体のThiamine要求菌ならびに酵母にたいする態度について
Author(s)	山田, 智佐江
Citation	大阪大学, 1965, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/28784">https://hdl.handle.net/11094/28784</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

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	山田智佐江
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第621号
学位授与の日付	昭和40年2月16日
学位授与の要件	薬学研究科応用薬学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	<b>Thiamine 誘導体の Thiamine 要求菌 ならびに酵母にたいする態度について</b>
(主査)	(副査)
論文審査委員	教授 川崎近太郎 教授 上原喜八郎 教授 青沼繁

## 論文内容の要旨

Thiamine を要求する微生物として乳酸菌 *Lactobacillus fermenti* 36 ならびに酵母 *Kloecker apiculata* を用いて種々の Thiamine 誘導体の活性を比較検討し, Thiamine 活性を示す原因および2種の微生物による Thiamine 誘導体利用の様式を究明した。また Thiamine によって増殖抑制をうける酵母 *Saccharomyces carlsbergensis* 4228 についても Thiamine 誘導体の態度を検討した。

## I Thiamine 要求性微生物にたいする Thiamine 誘導体の活性

高等動物にたいして Thiamine 活性を持つと報告されている一連の Thiamine 誘導体の *Lactobacillus fermenti*, *Kloeckera apiculata* にたいする活性をしらべて以下の成績を得た。

## 1) Dihydrothiamine

*Lactobacillus fermenti* にたいし Thiamine の 1/100, *Kloeckera apiculata* にたいし 1/10 の活性を示したが, この活性は2次的に培地との接触で生じた Thiamine によるものであることを明らかにした。また異性体間で活性の差はみとめられなかった。高濃度になると加水分解の結果生じた 5-Hydroxy-3-mercapto-2-pentanone による増殖抑制があらわれた。Dihydrothiamine 異性体間の安定度の比較を 2, 6-Dichlorophenolindophenol 酸化法を用いて行ない, 加水分解によって生成する 5-Hydroxy-3-mercapto-2-pentanone と Tris-(2-methyl-4-amino-5-pyrimidinylmethyl)-hexahydro-S-triazine を濾紙クロマトグラフィーにより証明した。

## 2) Disulfide 型ならびに Acyl 型 Thiamine 誘導体

Asymmetric disulfide 型誘導体は *Lactobacillus fermenti* にたいして培地中にシスティンが存在すると Thiamine を上まわる活性を示した。同条件下で Symmetric disulfide のうち Thiamine disulfide は Thiamine と同等の活性を持つが, Benzoylthiaminedisulfide はほとんど無効であった。培地からシスティンを除くとすべての Disulfide の活性は Thiamine の約 1/10 に低下した。これに

反し *Kloeckera apiculata* はすべての Disulfide 型誘導体を利用しうるが、特に Asymmetric disulfide は Thiamine よりも強い活性を示した。Symmetric disulfide の Benzoyl thiamine disulfide も約 1/5 の効力を示した。

Acyl 型誘導体のうち S 位のみに Acyl 基をもつものでは *Lactobacillus fermenti* にたいしてシステインの存在下に Thiamine と同等の効力を持つが、O, S-Diacyl 体はほとんど無効であった。システインが存在しないと S-Acyl 体の活性も Thiamine の約 1/10 に低下した。*Kloeckera apiculata* にたいしては Diacyl 型誘導体も Thiamine に近い効力を示した。

以上の実験成績から *Lactobacillus fermenti* は Disulfide 還元能力、脱 Acyl 化能力を持たないが、*Kloeckera apiculata* は Disulfide 還元ならびに脱 Acyl 化能力を持たないが、*Kloeckera apiculata* は Disulfide 還元ならびに脱 Acyl を行ないうることが明らかである。

### 3) Thioether 型 Thiamine 誘導体

*Lactobacillus fermenti*, *Kloeckera apiculata* ともに脱アルキル化能を持たず、Thioether 型誘導体を利用し得ない。置換基の大きい誘導体にみられる Thiamine 活性は物質自体の不安定性にもとづき、脱アルキルの結果生じる Thiamine によるものであることを明らかにした。

以上の結果から Thiamine 誘導体は菌体の酵素あるいは培地との接触などにより Thiamine にもどる時はじめて Thiamine 要求性菌にたいして活性を示し、*Kloeckera apiculata* は *Lactobacillus fermenti* に比べて広い範囲の Thiamine 誘導体利用能力を持つといえる。

## II Saccharomyces carlsbergensis 4223 にたいする Thiamine 誘導体の増殖抑制

*Saccharomyces carlsbergensis* にみられる Thiamine による増殖抑制の機序を明らかにする目的で I に用いた一連の Thiamine 誘導体による増殖阻害実験を行ない、化学構造と抑制力の関係についてしらべると同時に Thiamine による醣酵促進作用と増殖抑制効果の関連性についても検討を加えた。

### 1) Thiamine 誘導体の *Saccharomyces carlsbergensis* の増殖におよぼす影響

Disulfide 型誘導体のうち Thiamine propyl disulfide, Thiamine tetrahydrofuryl disulfide は Thiamine と同等の抑制力を持ち Thiamine cisulfide, Thiamine 8-(methyl-6-acetyldihydrothiooctate) disulfide も抑制するが、Benzoylthiamine disulfide は逆に増殖を促進した。

Acyl 型誘導体のなかで S-Benzoylthiamine, O-Benzoylthimine, Benzoylthiamine-O-monophosphate は弱い阻害を示すが、Diacylthiamine は無効、Dibenzoylthiamine は逆に増殖を促進した。

Alkoxy carbonyl 型誘導体ならびに Thioether 型誘導体はいずれも増殖を阻害しなかった。

Dihydrothiamine は Thiamine の 1/10, Thiaminediphosphate, Thiaminemonophosphate は Thiamine と同等の阻害力を持つが Thiothiamine は無効であった。

各誘導体による増殖阻害は Pyridoxine の添加で回復した。また増殖阻害をおこさない Dibenzoylthiamine, Benzoylthiamine disulfide に Thiamine を添加すると Thiamine による阻害があらわれた。

以上の誘導体の態度を Thiamine 要求菌にたいする活性と比較し、*Saccharomyces carlsbergensis* にたいして増殖阻害的に作用するためには Thiamine にもどりうることが必須の条件であると考えられる。

## 2) Thiamine 誘導体による *Saccharomyces carlsbergensis* の醣酵促進作用

Atkin らの醣酵試験系を用いる時, Disulfide 型誘導体のなかで Thiamine propyl disulfide は Thiamine と同等の醣酵促進力を持つが, Benzoylthiamine disulfide は無効であった。また Acyl 型誘導体のうち Benzoylthiamine - O - monophosphate はかなり強い促進効力を示すのに反し, Dibenzoylthiamine の効果は弱かった。すなわち増殖抑制効力と醣酵促進効力の間には正の相関がみとめられた。一方 Thiamine 添加時, 菌体あたりのブドウ糖の消費は正常時に比べて 1.3~2.0 倍に, またアルコール生成量も 1.2~1.6 倍に増加しており明らかに Thiamine によりアルコール醣酵は促進されていた。

### 結論

Thiamine 要求性微生物にたいする Thiamine 誘導体の活性は Thiamine への復帰が容易な誘導体ほど強くあらわれ, Thiamine に復帰しがたい誘導体では活性は弱かった。*Saccharomyces carlsbergensis* にたいしても Thiamine に復帰しがたい誘導体では増殖阻害があらわれず, Thiamine への復帰と増殖阻害効果の間には密接な関連がみとめられた。また *Saccharomyces carlsbergensis* において Thiamine による増殖阻害時には菌体あたりのブドウ糖消費量, アルコール生成量はともに高まっており, Thiamine による増殖抑制は Thiamine の示す醣酵促進効果と関連があることを示した。

### 論文の審査結果の要旨

- Thiamine を要求する微生物として乳酸菌 *Lactobacillus fermenti* 36 ならびに酵母 *Kloeckera apiculata* を用い各種 Thiamine 誘導体の増殖促進性を比較検討し, 2 種の微生物による Thiamine 誘導体利用の様式を究明した。

Dihydrothiamine (I) は乳酸菌にたいし Thiamine の 1/100, 酵母にたいし Thiamine の 1/10 の活性を示し, 活性の原因は酸性で (I) から酸化され生成する Thiamine によるもので, 同時に (I) は分解され, 5-Hydroxy-3-mercaptop-2-pentanone を生成し高濃度の (I) を添加した培地では抑制的に作用する。Disulfide 型ならびに S-Acyl 型 Thiamine 誘導体は乳酸菌にたいしシスティン添加時にのみ活性を示すが, O-Acetyl または O-Benzoyl 誘導体は不活性である。酵母は強弱の差があるがすべての化合物により増殖促進された。Thioether 型 Thiamine 誘導体は乳酸菌・酵母のいずれにも増殖促進性を示さないが, S-Triphenylmethyl-thiamine (II) のように不安定な化合物はその水溶液が加水分解され Thiamine を生成するため増殖促進性がみられた。

- つぎに Thiamine の添加により増殖抑制をうける酵母

*Saccharomyces carlsbergensis* 4228 について 1. で用いた Thiamine 誘導体の態度を検討した。乳酸菌を用いシスティン添加培地で活性を示した化合物すなわち Dihydrothiamine および Disulfide 型ならびに S-Acyl 型 Thiamine 誘導体の多くは抑制作用を示したが, O-Benzoyl 誘導体のみは高濃度で増殖促進性を示した。S-Alkyl-thiamine は増殖抑制を示さぬが Thiamine に加水分解さ

れ易い Thioether 型化合物（例えば (II)）は増殖抑制的に作用する。いずれの例においても遊離型 Thiamine にもどりうる化合物が増殖抑制を示した。また本酵母の醸酵試験、アルコール生産量、ブドウ糖消費量の測定から本酵母の Thiamine またはその誘導体による増殖抑制は Thiamine そのものの抑制作用で Thiamine の醸酵促進効果と関連のあることを示した。

3. 以上の知見により乳酸菌および 2 種の酵母の各種 Thiamine 誘導体にたいする態度が比較検討され、Thiamine に復帰しうる誘導体にのみ微生物にたいし活性を示し、*Saccharomyces carlsbergensis* にたいしては抑制的に作用することが明かにされ抑制機構の解明がなされた。よって本論文は薬学博士の学位を授与するに価値あるものと認める。