

Title	Thiamineとアミノ酸またはアミン類との反応成績体とそれらのAntithiamine作用とについて
Author(s)	倉田, 軍一
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29867
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	倉 田 軍 一 くら た ぐん いち
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	第 1527 号
学位授与の日付	昭和 43 年 8 月 28 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 とアミノ酸または アミン類との反応成績体とそれらの Antithiamine 作用とについて
論文審査委員	(主査) 教授 川崎近太郎 (副査) 教授 堀井 善一 教授 青沼 繁 教授 上原喜八郎

論 文 内 容 の 要 旨

〔緒 言〕

Thiamine (I) はアルカリ溶液においてチアゾール核が開裂したチオール型構造 (I') をとり、あるいはチオケトン型構造 (I'') をもとるといわれ種々反応性に富む。増田は Thiamine のアルカリ溶液にアンモニア、脂肪族第 1 級アミン、ケトン試薬を作用させると Thiamine のチアゾール部分に脱硫置換反応が起こることを見出した。

一方 Thiamine はアルカリ性において放置または加熱するとき酸化、その他の変化をうけ易く、アルカリ性での反応成績体として Thiothiamine, Diazepine 体, Thiamine disulfide など数種の化合物が知られている。著者はアルカリ性の Thiamine 溶液から新しい反応成績体として Desthiothiamine を分離したのでそれを中心としての研究を行なった。

第 1 章 Thiamine とアミノ酸との反応成績体

著者は Thiamine のアルカリ溶液に当量のアミノ酸を加え放置するとき硫化水素を発生するとともに Thiamine の脱硫化合物が得られることを見出した。この反応はグリシンを用いたばあいによく進行し、他の脂肪族アミノ酸およびタウリンを用いたばあいも同一の脱硫化合物が得られた。本化合物は $C_{12}H_{18}O_3N_4$ に相当する分析値を示し、S を含まない点から Desthiothiamine と命名した。Desthiothiamine の UV スペクトル, IR スペクトル, NMR スペクトルの測定および Hydroxyiminothiamine (II), Imidazolothiamine (IV) または Thiamine (I) への転換および Diazepine 体 (V) からの転換などの結果からその構造をチオケトン型 Thiamine (I'') の S 原子が O 原子におきかわった N-(4-Hydroxy-1-methyl-2-oxobutyl)-N-[(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl) methyl] formamide (III) であることを推定した。

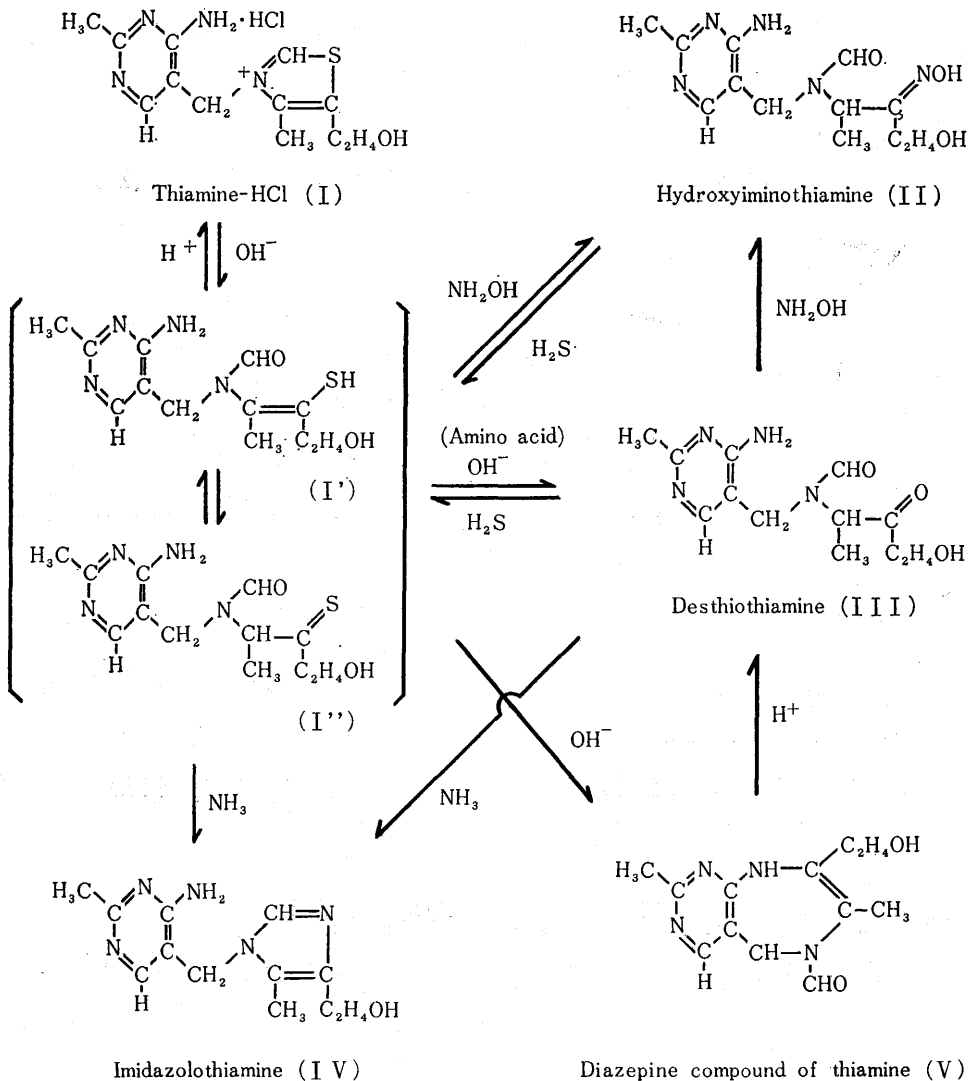
この Desthiothiamine 生成の反応においてアミノ酸としてはグリシンが最適であり、 α -アラニン、

アスパラギン酸, グルタミン酸, β -アラニンがこれについて Desthiiothiamine の生成を促進した。オルニチン, アルギニン, セリンでは促進作用が弱く, また α -アミノイソ酪酸, サルコシン, プロリン, *p*-アミノ安息香酸, アントラニル酸のばあいには以上のような促進作用をみとめることができなかった。

Desthiiothiamine の生成条件を検討するため Thiamine-HCl にたいしグリシン等モル量, NaOH を1.6~3.8モル量共存させ (反応溶液の液性は pH 8.~11.2), 反応温度 20°C で放置したが NaOH 3モル前後で最高の生成量を示し, 残存する Thiamine 量も最低を示した。30°C または 40°C の加温は反応速度を高めた。

またアミノ酸を加えずに Thiamine をアルカリ性で加温するときは Diazepine 体を生成するが, 同時に Desthiiothiamine も微量生成することが, ろ紙クロマトグラフィーで証明された。

Thiamine にグリシンを等モル加え NaOH を 1~4モル加えた溶液を 30°C または 100°C で反

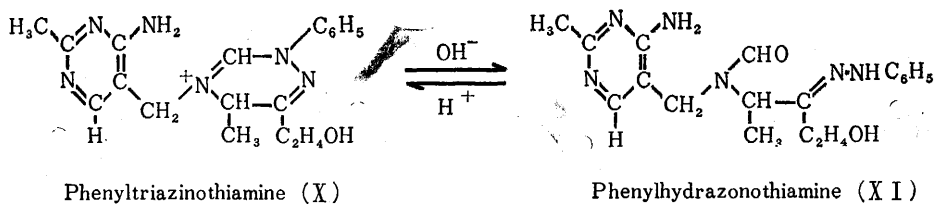
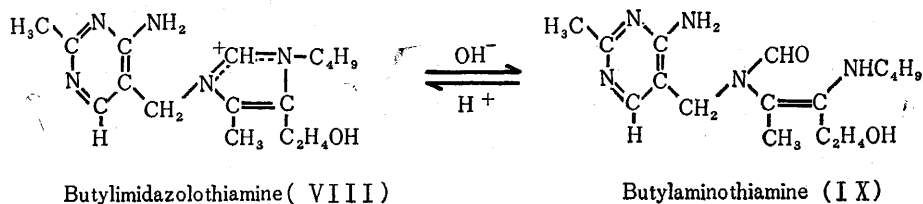
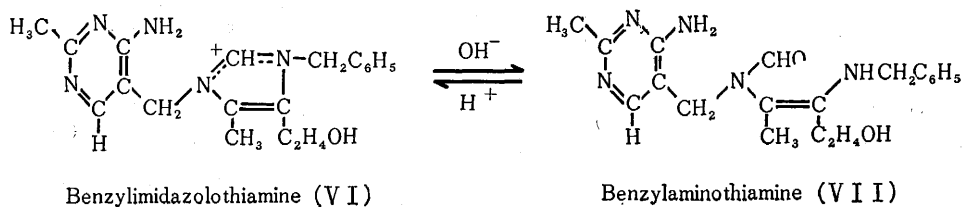
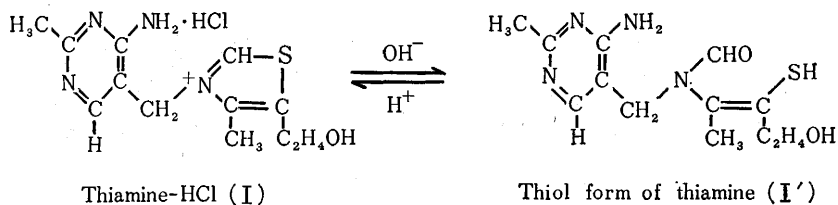


応させて、生成する Diazepine 体 および Desthiothiamine を検出すると、Desthiothiamine の生成が主反応であったが、同条件でグリシンを添加せずに反応を行なうときは Desthiothiamine の生成が抑制されて、Diazepine 体が著明に検出された。

第2章 Thiamine とアミン類との反応成績体の検討

著者の得た Desthiothiamine は増田が発表している Thiamine の脱硫置換反応と関連があるので Desthiothiamine とこれらの化合物との関連ならびに相互転換を研究した。

Thiamine とアミノ類との反応成績体から Desthiothiamine への転換は証明できなかったが、逆に Desthiothiamine から Hydroxyiminothiamine (II), Phenylhydrazonothiamine (XI), Imidazolothiamine (IV) および Benzylamiothiamine (VII) への転換を行なうことができた。さらに Hydroxyiminothiamine, Phenylhydrazonothiamine または Thiosemicarbazonothiamine のおのおのに硫化水素を反応させると Thiamine に転換することが判明した。



Thiamine とヒドロキシルアミンとから Hydroxyiminothiamine (II) が生成する反応において、グリシンを共存させると Hydroxyiminothiamine の生成量が増加することがみとめられた。グリシンの存在は Thiamine から Desthiothiamine への生成を促進し、さらにヒドロキシルアミンと反応して Hydroxyiminothiamine の生成を増加させたものである。

つぎに Thiamine のアミノ酸またはアミノ類による 脱硫反応成績体の Antithiamine 作用を検討するために、これら化合物の純度ならびに開環化合物と閉環化合物との関連性を検討した。Thiamine とベンジルアミンとの反応によって得られる Benzylaminothiamine(VII) と Benzylimidazolothiamine (VI), ブチルアミンとの反応によって得られる Butylaminothiamine (IX) と Butylimidazolothiamine (VIII), フェニルヒドラジンとの反応によって得られる Phenylhydrazonothiamine (XI) と、Phenyltriazinothiamine (X) とはそれぞれ Thiamine の開環型と閉環型とに対応する化合物である。両者の互変に酸性で閉環型をとり、アルカリ性で開環型となる。この互変関係を吸収スペクトルの変化および滴定曲線から検討した。

微生物にたいする Antithiamine 作用を検定するときこれらの化合物が Thiamine disulfide を夾雑するおそれがあるので、上記互変関係を利用して酸性、アルカリ性の互変をくり返し精製すると Thiamine disulfide を含まない試料が得られ、ろ紙クロマトグラフィーおよびバイオオートグラフィーによって純品であることを証明した。

第3章 *Lactobacillus fermenti* にたいする Antithiamine 作用の研究

Thiamine 類似の構造を有する化合物のうち生体内で Thiamine に復帰し得る構造の化合物は Thiamine 活性を示すが、Thiamine に置換基を導入したり、側鎖あるいは骨格を変化させた構造を有する化合物の中には Antithiamine 作用を示すものがある。たとえば乳酸菌 *Lactobacillus fermenti* にたいし、Pyrithiamine, Oxythiamine, Butylthiamine, Methylthiothiamine その他の化合物が Antithiamine 作用を有することが知られている。

よって著者の得た Desthiothiamine および Imidazorothiamine 類, Triazinothiamine 類について *L. fermenti* にたいし Antithiamine 作用を検討し、つぎの結果を得た。

Desthiothiamine は Thiamine と拮抗し50%増殖抑制比は538000であった。

Imidazolothiamine, Benzylimidazolothiamine および Butylimidazolothiamine は比較的強い Antithiamine 作用を呈し、50%増殖抑制比はそれぞれ380, 900および800であった。

これに反し Triazinothiamine, Phenyltriazinothiamine は Antithiamine 作用は弱く、それぞれ12000, 71000であった。

また Hydroxyiminothiamine および Thiosemicarbazonothiamine は $10^{-1}/4M$ 濃度の高濃度でも増殖抑制を示さなかった。

以上の結果から見て各化合物について Thiamine との構造類似性が遠ざかりとくに開環型となるにつれて Antithiamine 作用が弱くなり、あるいはほとんどみとめられなくなるに至った。

第4章 *Kloeckera apiculata* にたいする Antithiamine 作用の研究

Thiamine 類似化合物は酵母 *Kloeckera apiculata* にたいしても Antithiamine 作用を示すが、その態度は乳酸菌のばあいとは必ずしも一致しない。

著者の得た Desthiothiamine および Imidazolothiamine 類, Triazinothiamine 類その他の化合物の *Kl. apiculata* にたいする Antithiamine 作用を検討しつぎの結果を得た。

Desthiothiamine は *Kl. apiculata* にたいし乳酸菌のばあいと同じように弱い Antithiamine 作用を示し、50%増殖抑制比は140000であった。Imidazolothiamine, Benzylimidazolothiamine および Butylimidazolothiamine は比較的強い Antithiamine 作用を示し、3者の抑制比はそれぞれ 8900, 380および700であった。

Triazinothiamine は Antithiamine 作用が弱くその50%増殖抑制比は52000であった。Phenyltriazinothiamine は $10^{-3}/4M$ 濃度で増殖を抑制したが、この抑制は Thiamine によって回復されがたく長時間の培養で始めて回復された。Hydroxyiminothiamine および Thiosemicarbazonothiamine は弱い Antithiamine 作用を示し、その50%増殖抑制比はそれぞれ158000および200000であった。

このように *Kl. apiculata* にたいする Antithiamine 作用は *L. fermenti* のばあいに比べ、構造との関連性が弱く、むしろ菌体への集積および各化合物による Thiamine の菌体集積阻害との関連が考えられる。

よって、Pyrithiamine, Oxythiamine, Thiamine の硫酸エステルを含めてこれら化合物の菌体への集積ならびに菌体への Thiamine 集積阻害を検討した。

菌体への集積は Pyrithiamine がもっとも強く、Benzylimidazolothiamine, Butylimidazolothiamine がこれにつぎ、その他の化合物は弱かった。

各化合物の Thiamine 集積阻害比は完全阻害を100とすると、Benzylimidazolothiamine では87, Pyrithiamine では67, Imidazolothiamine では62, Butylimidazolothiamine では58で、その他のものは弱かった。

以上の結果から *Kl. apiculata* にたいして増殖を強く阻害する Antithiamine 化合物程菌体に多く集積され、また Thiamine 集積阻害作用も概して強いことがみとめられた。

第5章 線括ならびに結論

著者は Thiamine がアルカリ性において、アミノ酸とくにグリシンの存在において容易に硫化水素を発生することをみとめ、反応成績体として、Desthiothiamine を分離することに成功した。従来 Thiamine のアルカリ処理によって生成することが知られている Diazepine 体、その他の化合物との関連を検討した結果、Thiamine から Desthiothiamine への生成はアミノ酸の存在を必ずしも必要としないが、アミノ酸の共存においては加熱を行わずとも脱硫反応が容易に起こり、主反応成績体として Desthiothiamine が得られることを発見した。

Thiamine とアンモニア、脂肪族第1級アミンまたはケトン試薬との反応によって得られた化合物と Desthiothiamine との関連を明らかにし、Desthiothiamine から Imidazolothiamine, Hydroxyiminothiamine その他が得られること、また Desthiothiamine, Hydroxyiminothiamine および Phenylhydrazonothiamine その他に硫化水素を反応させることにより、いずれも Thiamine を生成することを証明した。

Desthiothiamine, Imidazolothiamine 類および Triazinothiamine 類について Thiamine 要求性の微生物にたいする Antithiamine 作用を研究した。その結果、乳酸菌 *L. fermenti* にたいしては

構造類似性の強い化合物が Antithiamine 作用を示したが、酵母 *Kl. apiculata* にたいしては菌体にたいする集積性が強く、かつ Thiamine の菌体への集積を強く阻害する化合物が Antithiamine 作用を呈した。

著者の研究によって Thiamine にたいする脱硫反応が検討され、新化合物として Desthiothiamine を分離し、その構造を明らかにした。また Desthiothiamine および Imidazolothiamine 類、Triazinothiamine 類の Thiamine 要求性微生物 *L. fermenti* および *Kl. apiculata* にたいする Antithiamine 作用を研究し、抑制比の異なることを明らかにし、その原因を考察した。

以上の成績から Desthiothiamine の単離により Thiamine とアミノ酸、アミン類との反応成績体の関連を明らかにし、これらの物質の Antithiamine としての作用を明らかにした。

論文の審査結果の要旨

Thiamine がアルカリ性において、アミノ酸とくにグリシンの存在により脱硫反応を起し Desthiothiamine (I) を生成することを発見し、この化学構造を明らかにした。

本化合物 (I) と Thiamine のアルカリ性における脂肪族アミンまたはケトン試薬との反応成績体との関連性を証明し、これらの化合物の *Lactobacillus fermenti* および *Kloeckera apiculata* にたいする Antithiamine 作用ならびにその機構を研究した。

よって本研究は薬学博士の学位を授与するに価値ある論文と判定する。