The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	O-Acylthiamine誘導体の生物活性に関する研究
Author(s)	永山, 富雄
Citation	大阪大学, 1970, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29924
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【18】

氏名・(本籍)	永山富雄（ながやまとみお）
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 2018 号
学位授与の日付	昭和45年3月30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	**O-Acylthiamine 誘導体の生物活性に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 川崎近太郎
	(副査) 教授 上原喜八郎 教授 青沼 繁 教授 岩田平太郎

論文内容の要旨

著者は O, S-Diacetylthiamine (DAT) の S-Acetyl 基の転移反応の検討から出発して，その生物活性について研究したさいに，シロネズミや Thiamine 要求性酵母 ***Kl. apiculata*** では Thiamine-HCl と同等の活性を示すのに Thiamine 要求性乳酸菌 ***L. fermenti*** にたいしては Anti-thiamine として作用する事実を見い出した。

この ***L. fermenti*** にたいする Acylthiamine の Anti-thiamine 作用機作の解明を中心にして，O, S-Diacylthiamine および O-Acylthiamine 誘導体の生物活性を検討し以下の知見を得た。

(1) O, S-Diacetylthiamine, O-Benzoylthiamine および O, S-Dibenzoylthiamine の微生物活性

O, S-Diacetylthiamine (DAT) の培地濃度を 10^{-8}〜$10^{-3}\times 1/4$M として増殖活性を測定した結果，***Kl. apiculata*** では Thiamine-HCl と同等の活性が認められた。しかし，***L. fermenti*** では Cysteine (CySH) 不含の培地では増殖活性は全く認められず，CySH 含有培地では DAT の $10^{-5}\times 1/4$M 付近で若干の増殖がみられるが，さらに高濃度となると増殖活性は消失し抑制現象が認められた。正常菌の生理食塩水浮遊液を DAT と保温すると ***L. fermenti*** 菌体には DAT は集積されず，***Kl. apiculata*** 菌体には DAT がリン酸化型 Thiamine として集積されることが証明された。

L. fermenti にたいする DAT の増殖活性は CySH 濃度の増加 (50mg %→176mg %) により促進される傾向があったが，等モルの Histidine (His) によっては増殖活性は現われなかった。DAT の培地中での O-Acetylthiamine (OAT) ないし Thiamine への転換は CySH によ

っては短時間で促進されるが His では長時間を要した。培地と DAT をあらかじめ加圧滅菌処理すると CySH 不含培地でも増殖活性は Thiamine-HCl と一致し，*L. fermenti* において DAT の培地における Thiamine への復帰度と活性には密接な関係が認められた。一方，*L. fermenti* において CySH の存否にかかわらず，増殖に必要な Thiamine が存在しても DAT が高濃度共存すると増殖抑制を受けその抑制は Thiamine によって回復された。DAT の *L. fermenti* にたいする増殖抑制比は CySH により左右され，CySH (+) で約250，CySH (−) で約500となり CySH によって増強されることから抑制には DAT より OAT が関与していることが示唆された。しかしながらが OAT 不安定で純物質が得がたいため，より安定な O-Benzoylthiamine (OBT) および O, S-Dibenzoylthiamine (DBT) を用いて *L. fermenti* にたいする O-Acyl および O, S-Diacylthiamine の増殖抑制作用を検討した。

その結果 OBT は *L. fermenti* にたいし競合的な増殖抑制作用を示し，DBT は CySH 含有培地においてのみ OBT と類似の作用を発現することが明らかとなった。OBT, DBT の増殖抑制比はそれぞれ CySH (+) で 340〜490，410〜640，CySH (−) で 210〜240，6500 以上であった。一方，*Kl. apiculata* にたいしては OBT も DBT も Thiamine-HCl とほぼ等しい増殖活性を示した。

(2) *L. fermenti* にたいする O-Benzoylthiamine および O-Benzoylthiamine 同族体の Thiamine とりこみ阻害作用と Anti-thiamine 作用

Thiamine 欠乏 *L. fermenti* 菌体を調製し Thiamine のとりこみにたいする OBT の作用を検討した結果，OBT 自身は菌体にとりこまれ難いが Thiamine のとりこみを強く阻害することが判明した。阻害率は Thiamine と 1 : 1 の共存時（20分間作用時）OBT : 47.9%，Pyri-thiamine : 45.0%，Imidazolothiamine : 30.0%で OBT は Anti-thiamine 化合物よりむしろ強力で，同時に比較した O-Acylthiamine も共通して39.3〜45.0%の阻害率を示した。しかし DBT には阻害能は，ほとんど認められなかった。OBT の Thiamine とりこみ阻害は競合的に起こり，阻害発現には培地中に Thiamine と共存することが必須で OBT との前処理菌ではとりこみ阻害は認められなかった。また OBT 単独作用時増量しても，わずかしか菌体に吸収されず大部分 OBT のままで存在することが証明された。

増殖過程での菌体 Thiamine 含量と共存 OBT との関係を検討した結果，Thiamine と 1 : 5 では増殖には影響を与えないが，増殖の全過程を通じて菌体 Thiamine 含量（大部分リン酸化型 Thiamine として検出された）を約½に減少させることが判明した。

1 : 200〜400 と OBT を増量すると菌は著明に増殖抑制を受け，誘導期が約 5 時間延長され，18時間経ても増殖度は低く菌体単位当りの Thiamine 含量，特に誘導期のリン酸化型 Thiamine 低下が著しく認められた。

またこのときのリン酸化型 Thiamine 以外のものは，ほとんど OBT として検出された。

また Thiamine をあらかじめ吸収している菌体は OBT 含有培地でも正常に増殖し，OBT 前処理菌も Thiamine 含有培地では未処理の菌と変らない増殖が認められた。

結局 OBT の *L. fermenti* にたいする作用は菌体の Thiamine 吸収時の競合に集約されてお

り，Thiamine の吸収を阻害するために Anti-thiamine として作用することが明確となった。

OBT の同族体として O-p-MitrobenzoylthiamineN (O_2-BT) と O-p-Methoxybenzoylthiamine (CH_3O-BT) を用いて，*L. fermenti* にたいする活性を OBT と比較した結果，CH_3O-BT は OBT とほとんど同一の作用を示した。NO_2-BT は Thiamine とりこみ阻害作用を有するが OBT より弱く，Anti-thiamine 作用はなく Thiamine-HCl の約1/10の増殖促進性が認められた。NO_2-BT は OBT と比較して化学的にも Thiamine に復帰しやすく，菌体にもとりこまれやすいことが証明され，O-Acylthiamine が Anti-thiamine として作用する条件の一つが Thiamine の Hydroxyethyl 基にエステル結合した Acyl 基の安定性にあることが明らかとなった。

(3) O-Benzoylthiamine の動物にたいする活性

動物にたいする OBT 経口投与時の作用を検討した結果，マウスにたいする急性毒性は Thiamine-HCl と大差なく，Thiamine 欠乏シロネズミにたいして Thiamine-HCl の約 1/2の成長促進性を有し Anti-thiamine 作用は認められなかった。腸管吸収性を検討したが，100 μg Eq/rat の投与量における排泄量では尿中で Thiamine 群>OBT 群 ($p<0.05$)，糞中で OBT 群>Thiamine 群 ($p<0.01$) であり，OBT 群の糞中には OBT のままで一部残存することが確認された。一方，5 mg Eq/Kg（体重）の投与後 1 時間の血中 Thiamine 増加量を測定すると，シロネズミでは Thiamine 群> OBT 群 (p0.01) であったがニワトリでは，2 群間に差はなかった。

従ってシロネズミの成長促進性において Thiamine-HCl と OBT とに差があった原因は OBT が安定でしかも腸管吸収性において Thiamine に劣ることにある。

結　　論

O, S-Diacylthiamine および O-Acylthiamine の生物活性は Thiamine 要求性の 2 種の菌すなわち *Kl. apiculata* と *L. fermenti* とでは著しく異なり，前者の菌においてはそれらは Thiamine-HCl とほぼ同等の増殖促進性を示すが，後者の菌にたいしては Anti-thiamine として作用する。この *L. fermenti* にたいする Anti-thiamine 作用は，O-Acylthiamine が菌体の Thiamine とりこみを競合的に阻害するために起こる。また O-Acylthiamine が Anti-thiamine として作用するためには O-Acyl 基が安定であることが必須で，O-Acyl 基を脱離しやすい化合物は，Anti-thiamine 性を失う。

O-Acylthiamine は動物にたいして Thiamine-HCl より低いが成長促進性を有し，活性を低めている原因は腸管吸収性の低さにある。

論文の審査結果の要旨

O, S-Diacylthiamine および O-Acylthiamine の生物活性がチアミン要求性微生物 *L. fermenti* および *Kl. apiculata* において異なる原因を追究し，O-Acylthiamine が前者の菌に対して抗チアミン作用を呈する機構を解明した。O-Benzoylthiamine は動物に対してチアミン効

力を示すが活性の低い原因は腸管吸収性の悪いためであることを明らかにした。本論文は薬学博士の学位を授与するに値するものと認める。