

Title	Deoxythiamineおよびその類似体のAntithiamine作用にかんする研究
Author(s)	紀氏, 汎恵
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29947
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名・(本籍)	き 紀 し 氏 ひろ 汎 え 恵
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	第 1 8 3 4 号
学位授与の日付	昭 和 4 4 年 1 0 月 3 0 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	Deoxythiamine およびその類似体の Antithiamine 作用にかんする研究
論文審査委員	(主査) 教授 川崎近太郎 (副査) 教授 青沼 繁 教授 上原喜八郎 教授 岩田平太郎

論 文 内 容 の 要 旨

緒 言

Thiamine (B_1) の拮抗物質に関する研究は、1943年の Woolley らによる Pyriithiamine およびその翌年の Cerecedo らによる Oxythiamine の報告以来種々の B_1 類似物質についてなされてきた。著者は B_1 の Pyrophosphoryl 化に必要な OH 基を除いた B_1 の類似体が B_1 拮抗物質になるであろうと推定し、以下に示す Deoxy- B_1 類似体の B_1 拮抗作用の有無を微生物で調べ、そのなかで化学構造が最も B_1 に類似しかつ最も強い B_1 拮抗作用を示した Deoxythiamine (DOB_1) につきその生物学的効果ならびに拮抗部位を検討し、さらに化学療法剤としての可能性を追求した。

第 1 章 Deoxythiamine およびその類似体の乳酸菌におよぼす増殖阻害作用

DOB_1 およびその類似体が B_1 要求性乳酸菌 *Lactobacillus fermenti* にたいし増殖効果のないことをたしかめたのち、本菌の Suboptimal な B_1 量を含む MaciasR 培地に各試料を加えて菌の増殖度をみると、 DOB_1 、 $DOMB_1$ 、 $DOEB_1$ 、 $CI-B_1$ および B_1-SE に増殖阻害効果のあることを認めた。この阻害は B_1 で特異的に回復し競合拮抗を示した。しかし、これら化合物の Thiothiamine 型、Thiochrome 型および Oxythiamine 型同族体には阻害作用はみられなかった。同様の実験を B_1 非要求性乳酸菌である *L. casei* および *L. arabinosus* についても行なったが、両菌にたいしてはいずれの化合物も阻害作用を示さなかった。

第 2 章 Deoxythiamine およびその類似体の酵母におよぼす増殖阻害作用

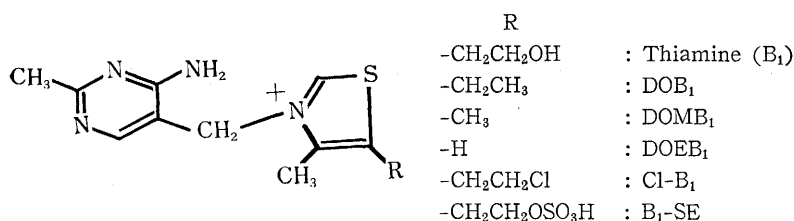
乳酸菌とかなり生物種を異にする酵母につき同様の実験を行なった。すなわち DOB_1 および

その類似体が B₁ 要求性酵母 *Kloeckera apiculata* にたいし増殖効果を持たないことを確かめたのち阻害効果を調べたところ、DOB₁、DOMB₁、DOEB₁、Cl-B₁ および B₁-SE は阻害効果を示し、その阻害は B₁ で特異的に回復した。B₁ 非要求性酵母 *Saccharomyces carlsbergensis* にたいしてはこれら化合物は阻害作用を示さなかった。

すなわち B₁ 要求性乳酸菌にたいして増殖阻害作用を示した化合物は B₁ 要求性酵母にたいしても同様の作用を示すことを明らかにした。各種 B₁ 拮抗物質の化学構造および拮抗比は Table に示すとうりである。

The Inhibition Indices of Various Antithiamine Compounds on Microorganisms

Compound	<i>L. fermenti</i>	<i>Kl. apiculata</i>
Deoxythiamine (DOB ₁)	250	200
Deoxymethyl-thiamine (DOMB ₁)	250	200
Deoxyethyl-thiamine (DOEB ₁)	500	—
Chlorothiamine (Cl-B ₁)	550	900
Thiamine sulfuric ester (B ₁ -SE)	1400	2200



第3章 Deoxythiamine およびその類似体の理化学的諸性質，確認法 ならびに定量法

DOB₁ の物理的諸性質は B₁ と非常によく似ていて、OH 基の有無がほとんど物理的性質の変化をきたさないことがあきらかとなった。B₁ にかかなり特異的な化学反応においても両者にほとんど差がみられなかったが、Br CN 酸化によって生成する Thc 体の PPC による Rf 値にはあきらかな差がみられ、この差により両者の分離確認が可能であることを認めた。非酵素的ではあるが生理的に近い条件で DOB₁ が B₁ と同様に Pyruvic acid と反応して Acetoin を生成することにより、B₁ の活性部位である Thiazole 核 2 位の C における電子密度も両者はよく似ていると推定される。

第4章 Deoxythiamine の生物学的効果

マウスにたいする DOB₁ の L.D.₅₀ 値は B₁ の値よりやや小さく、またこの毒性は B₁ 欠乏飼育マウスでやや強まったが、B₁ および Thiamine pyrophosphate (TDP) により予防されなかった。DOB₁ 10mg をシロネズミに皮下投与したばあい、5 時間以内に約70%が DOB₁ の形で尿中に排泄され、この現象は B₁ のばあいと類似していた。

B₁ 欠乏飼育のマウスおよびシロネズミにそれぞれ1日あたり 800 および 1000 μ g の DOB₁ を

連続皮下投与したばあい、体重の増加はみられなかったが、対照群に比してやや延命の効果がみられた。B₁ 5 μg と併用投与したばあい、B₁ 単独投与群との間に大きな差を認めなかった。すなわち皮下投与では DOB₁ は B₁ 拮抗作用を示さなかった。つぎに B₁ 欠乏食飼育シロネズミに飼料 5 g あたり DOB₁ 2 mg を混ぜて連続経口投与したばあい、対照群とほぼ等しい体重減少を示したが、B₁ 5 μg と併用経口投与したばあい、B₁ 単独投与群との間にいちじるしい体重の差がみられ、DOB₁ の阻害効果を認めた。また DOB₁ と B₁ のいずれか一方を注射投与、他方を経口投与したばあい、B₁ 単独投与群との間にほとんど差がみられなかった。以上の結果より DOB₁ は B₁ と同時に経口投与したばあいにも拮抗作用を示すことが明らかとなり、動物が腸管から B₁ を吸収するさいに共存する DOB₁ がその吸収を特異的に阻害すると推定した。

第5章 Deoxythiamine の作用部位

1) B₁ 関連酵素系における DOB₁ の作用

TDP が補酵素である Pyruvate decarboxylase の apo 酵素を青島の方法に準じてパン酵母より精製し、DOB₁ と TDP の拮抗作用の有無を調べたが、阻害効果はみられなかった。また B₁ が基質として作用する Thiamine pyrophosphokinase を Kaziro および Mano の方法に準じて酵母およびシロネズミ肝ぞうより精製し、B₁ から TDP への反応にたいする DOB₁ の阻害効果を調べたが認めることはできなかった。このことから DOB₁ が Pyrithiamine とその阻害作用の様式を異にするものと思われた。

2) 微生物の B₁ とりこみ機構における DOB₁ の阻害作用

ラベルした B₁ を用い乳酸菌および酵母の B₁ とりこみ実験を行ない、そのさいの DOB₁ 添加の影響を検討した。すなわち *L. fermenti* のばあいは Macias R 培地、*Kl. apiculata* のばあいは Hoff-Jørgensen 培地に B₁ を加え、それぞれ 37°C で 30 分間保温、菌体内にとりこまれる B₁ 量が 80~100% になる条件を設定し、この条件下で、B₁ 拮抗物質を共存させて菌体の B₁ とりこみ量の変化を測定した。DOB₁ は菌体の B₁ とりこみをいちじるしく阻害した。各種拮抗物質の B₁ とりこみ阻害の強さは *L. fermenti* のばあい Pyrithiamine > DOB₁ ≐ DOMB₁ > B₁ SE ≐ Amprolium であり、*Kl. apiculata* のばあい Pyrithiamine ≐ DOB₁ ≐ DOMB₁ > Amprolium ≐ B₁ SE の順であり、この強さは増殖阻害の強さの順とほぼ一致した。以上の結果より DOB₁ の作用部位は主として生体の B₁ とりこみ機構であり、酵素系にたいする阻害作用ではないことが認められた。

第6章 Deoxythiamine のコクシジウム症予防効果

B₁ 要求性の原虫 *Coccidium* が腸管に寄生することによりおこる家畜類の *Coccidium* 症にたいし B₁ 拮抗物質である Amprolium が化学療法剤として使用されていることから、本症にたいする DOB₁ の予防効果試験を依頼した。すなわち生後 8 日目の鶏 1 羽あたりに *Coccidium* の 1 種である *Eimeria tenella* 1.0 × 10⁵ コを与えて感染させ対照群に普通食、実験群に DOB₁ 0.02 % 含有食を与えて 8 日間飼育し、生存率、増体率、Oocyst 値ならびに病変率を求めたところ、DOB₁ は Amprolium とほぼ同程度の *Coccidium* 症予防効果を示すことが判明し、化学療法剤

の可能性が示された。

結 論

B₁ の Pyrophosphoryl 化に必要な OH 基を除いた Deoxy-B₁ 類似体は B₁ 要求性微生物にたいして B₁ 拮抗作用を示すことが明らかとなった。これら類似体のうち最も B₁ に類似しかつ最も強い拮抗作用を示した DOB₁ につき種々の実験を行ない以下に示す結果をえた。すなわち DOB₁ はその作用部位が主として生体の B₁ とりこみ機構における B₁ との競合であり、従来から B₁ 拮抗物質として知られている Pyrithiamine や Oxythiamine とは異なった作用機構を持つ B₁ 拮抗物質であることを証明した。Pyrithiamine や Oxythiamine は動物にたいし微量で強い B₁ 欠乏症状をひきおこし化学療法剤になりえないが、DOB₁ は B₁ 要求性微生物が動物に寄生しておこす病気、例えばニワトリの *Coccidium* 症の治療剤になりうることを確認した。

論文の審査結果の要旨

Thiamine のチアゾール部の側鎖 CH₂CH₂OH のアルコール基を除去した化合物 Deoxythiamine およびその同族体が Thiamine 要求性微生物 *Lactobac fermenti* および *Kloekera apiculata* にたいし増殖抑制を示し抑制比が強く、シロネズミにたいしても経口投与により Thiamine と拮抗し、その吸収を阻害する。本物質の Antithiamine 作用について微生物・動物にたいする作用部位ならびに阻害機構を明かにし農業として応用の可能性を示した。よって本論文は薬学博士を授与するに価値あるものと認める。