

Title	β -アラニン誘導体の生理化学的研究
Author(s)	青木, 正忠
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/30106
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 1 】

氏名・(本籍)	あおきまさただ 青木正忠
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 1953 号
学位授与の日付	昭和 45 年 3 月 30 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	β-アラニン誘導体の生理化学的研究
論文審査委員	(主査) 教授 青沼 繁 (副査) 教授 上原喜八郎 教授 岩田平太郎 教授 三浦 喜温

論 文 内 容 の 要 旨

筋肉中に多量存在するアンゼリンおよびカルノシンや Co. A, ヘビの筋肉中に存在するオフィジンおよび鯨の筋肉にみられるベラニン等の構成アミノ酸である β -アラニンは一般蛋白質中には含まれない。このアミノ酸の発見は古く 1900 年に Gulewitsch が肉エキスから単離した頃にさかのぼる。またその研究において豚腎臓 transamidinase を用いた実験で amidine acceptor になるということ, Pyruvic acid dehydrogenase 活性化作用, 放射線防禦作用, モルモットの摘出小腸収縮抑制作用およびモルモット子宮収縮促進作用が認められているが, β -アラニンが動物体内ではアンゼリンおよびカルノシンの形で最も多く存在しているとすればこれらジペプチドの作用を追求することによりはじめて β -アラニンの生体内意義も解明出来るのではないかと考えた。そこでまず体内各部位でのペプチドの生合成を分布の違い, 即ち臓器特異性の面から検討し, 更にこれらペプチドを構造と活性の関係から追求する目的で β -アラニン誘導体の合成を行ない, アンゼリンおよびカルノシン等の生理作用と比較, 検討した。

まず生合成に関しては β -アラニン-2- 14 C, DL-アスパラギン酸-3- 14 C および, L-ロイシン-U- 14 C をそれぞれラットに投与してその体内分布を検討した。なおこの際アンゼリン-カルノシン分画は Stein-Moore の方法によって得た。その結果 β -アラニン-2- 14 C および DL-アスパラギン酸-3- 14 C とともにアンゼリン-カルノシン分画に取り込まれており, しかもその割合いはほぼ等しい。しかしアスパラギン酸が DL-体であることを考慮すると, 実際にはもっと大きいことが考えられ, この事実はアスパラギン酸が脱炭酸して β -アラニンを通りアンゼリン, カルノシンになる経路も存在するが, この他にも合成経路が存在する可能性を示している。一方, L-ロイシンではアンゼリン-カルノシン分画にカウントがみられないことからこの両者に特異的と考えられる。またアンゼリン-カルノシン分画から薄層クロマトグラフィーによりアンゼリンおよ

びカルノシンを分離し、その放射能を測定したところ β -アラニン、DL-アスパラギン酸ともにカルノシンに多く取り込まれていることを認めた。

次に構造と活性の関係を追求するため β -アラニン誘導体をいくつか合成した。それら化合物としては酸性アミノ酸の L-グルタミン酸、中性アミノ酸の L-ロイシン、塩基性アミノ酸の L-ヒスチジン、有核アミノ酸の L-フェニルアラニンおよび特殊アミノ酸の β -アラニンとのそれぞれのペプチドと β -アラニンのアミノ基にコール酸をつけた choyl- β -alanine 等である。

まず β -アラニルペプチドの中では β -alanyl-L-glutamic acid に多種類の生理作用が認められた。ガマ摘出心臓作用を八木-Straub 法で検討したが、25 μ g で心搏振幅の収縮位減少を認めた。

しかしアンゼリンのような作用の反転は認められなかった。また本物質で前処置しておいてカルシウムイオンを添加するとカルシウムの作用が抑制される。しかし EDTA の作用とは異なっていた。ラット摘出心臓に関しては 500 μ g/ml で収縮位の抑制を示し、またこの際灌流液の滴下速度も正常の $\frac{1}{2}$ に減少した。なおアンゼリン、カルノシンにはこのような作用は認められない。更に血圧に関しては 15mg/rabbit で一時低下後持続的上昇作用を認めたが、アンゼリンの場合下降性を示している。この際最初低下が現われているのは血管収縮より以前に心臓抑制のみが現われているためと思われる。そこで平滑筋収縮作用をモルモット摘出腸管によって調べた。結果は 100 μ g/ml で腸管を Ach 10 $^{-6}$ g/ml の約 $\frac{1}{2}$ の収縮を示し、さらに Ach で収縮を示したものに本物質 100 μ g/ml を加えると収縮が増強するということから Ach と作用部位を異にしていると思われる。またラット摘出子宮に対しては直接収縮作用は示さないが、本物質 150 μ g でオキシトシン 0.1mU/ml と拮抗した。この作用はアンゼリンの 17.5 μ g に比べるとはるかに弱い。ヒョコ心筋への 32 P の取り込みについてアンゼリンでは抑制されるのに反し、本物質は 1% の危険率でその取り込みを増加した。そこで更に磷酸代謝について 2, 3 実験した。まず酸化的磷酸化では本物質が対照に比して無機磷の消費を増加することにより P/O 値の増加を示した。

また血清無機磷に関しては 1 時間目に 9% の増加をみた。そこでこのような生理作用のみられた β -alanyl-L-glutamic acid の毒性試験を行なったが 3.36 g/Kg と余り強いものではなかった。また本物質をトリチウム化し、その体内分布を検討したところ、大腸・小腸の消化器および精のう・前立腺の生殖器官に分布の特徴が認められ、このことは既述の生理作用と何等かの関連性があるのではないかと考えている。

choyl- β -alanine に関してはコール酸と同様の腸肝循環をするか、またその際腸内細菌に対してどのように影響をおよぼし、また代謝されるかを検討し、SS 培地への利用を試みた。腸肝循環についてはトリチウム化 choyl- β -alanine を生成し、使用したが、ラット投与後 1 時間後には小腸および小腸内容物に殆んどカウントが存在したのに反し、24 時間後には小腸・小腸内容物のみでなく、大腸、大腸内容物・糞にもカウントがみられ、このことは choyl- β -alanine が腸肝循環することを示している。また腸内細菌による分解の様子をみるため 24 時間後の小腸・小腸内容物についてブタノール抽出を行ない、薄層クロマトグラフィーにかけたところ大部分 choyl- β -alanine として存在することが認められ、腸内細菌により分解されにくいことを示した。また

微生物の増殖におよぼす影響については *B. subtilis*, *S. cerevisiae* および *S. carlsbergensis* 増殖は抑制するが, *E. coli* 等グラム陰性菌には何等影響しなかった。また抑制を示す菌に対しては酸素消費やグルコースの代謝に関しても抑制を示した。また S S 培地に添加した場合デオキシコール酸よりもやや強い作用を有し, 低濃度でも抑制的で特にサルモネラの選択培地として有効であることがわかった。

なおこの阻害機構を検討するために cholyl- β -alanine- ^3H が菌体に取り込まれるかみたが, 取り込まれておらず, このことは糖の菌体への取り込みを培地成分と菌体膜との相互関係の場で抑制した結果と考える。

以上本研究より

- (1) β -アラニンとアスパラギン酸より特異的にカルノシン, アンゼリンに生合成される。
- (2) カルノシン, アンゼリン以外の β -アラニン誘導体として多くの生理作用 (ガンマ・ラット摘出心臓収縮位抑制作用, 家兎血圧の一時低下後持続的上昇作用, モルモット摘出子宮でのオキシトンとの拮抗作用, ヒヨコ心筋への ^{32}P 取り込み増加, 酸化的磷酸化の促進および血清無機構の増加) を持った β -alanyl-L-glutamic acid を合成した。
- (3) cholyl- β -alanine はコール酸同様の腸肝循環を示し, 糖の菌体への取り込みを培地成分と菌体膜との相互関係の場で抑制した結果 *B. subtilis*, *S. cerevisiae* および *S. carlsbergensis* 等の増殖を阻害し, サルモネラに対する選択培地として S S 培地に利用可能である。

論文の審査結果の要旨

β -アラニン誘導体につき, その生理化学的作用を検討し, β -アラニル-L-グルタミン酸アシッド: コーリール- β -アラニンなどが薬として使用出来る事を認めた。従って本論文は薬学博士としての価値を有するものと認める。