

|              |  |
|--------------|--|
| Title        | アルカリ域でのThiamineの脱硫反応および閉環反応  |
| Author(s)    | 横山, 浩  |
| Citation     | 大阪大学, 1970, 博士論文   |
| Version Type |  |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/30113">https://hdl.handle.net/11094/30113</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</a> をご参照ください。 |

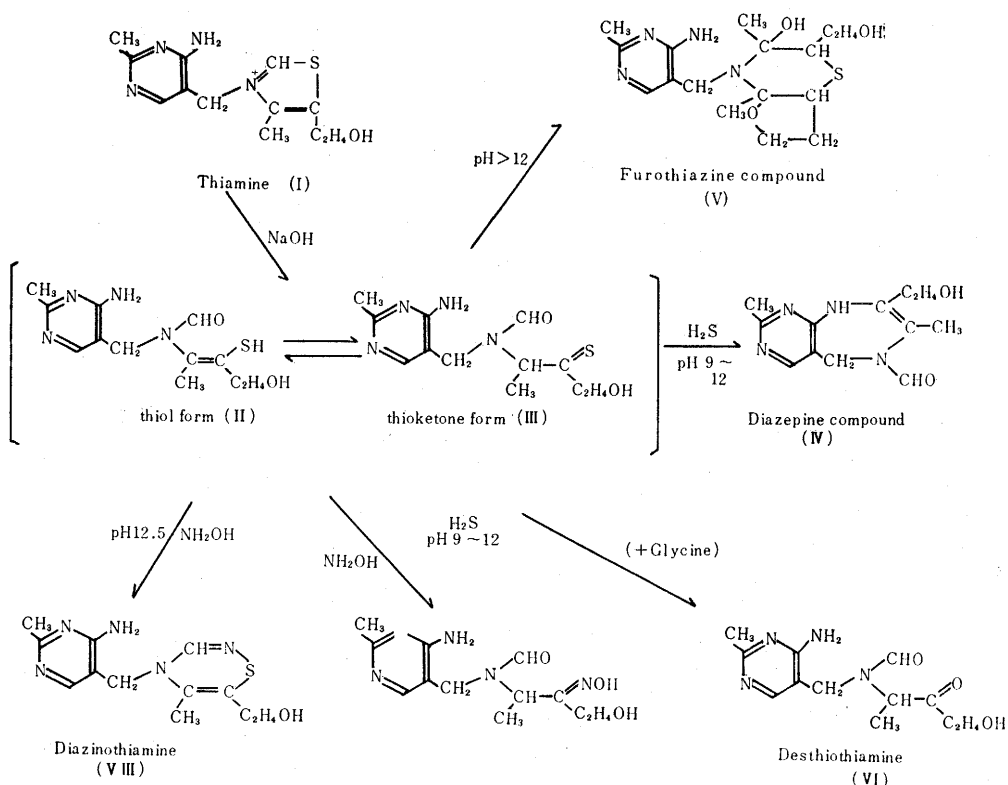
***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

|         |                                   |         |          |
|---------|-----------------------------------|---------|----------|
| 氏名・(本籍) | よこ<br>横                           | やま<br>山 | ひろし<br>浩 |
| 学位の種類   | 薬                                 | 学       | 博 士      |
| 学位記番号   | 第                                 | 1963    | 号        |
| 学位授与の日付 | 昭和45年3月30日                        |         |          |
| 学位授与の要件 | 薬学研究所応用薬学専攻<br>学位規則第5条第1項該当       |         |          |
| 学位論文題目  | アルカリ域での Thiamine の脱硫反応および閉環反応     |         |          |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 川崎近太郎                  |         |          |
|         | (副査)<br>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



Thiamine (I) はアルカリ性になると不安定になり、きわめて多様の構造変化を示すが、なかでも Thiamine の Thiazole 核が開裂して thiol 型になった Thiamine は種々の反応性に富んでいる。さらに thiol 型になる Thiamine は低アルカリ水溶液中で thiol (II) ⇌ thioketone (III) 型構造の互変の状態で存在し、放置することによって酸化あるいは分解反応が進行する。とくに後者の分解反応では Thiamine から Diazepine 体 (IV), Furothiazine 体 (V) の生成が知られている。

著者は倉田らとの共同研究で Thiamine のアルカリ水溶液中にグリシン等のアミノ酸を共存させることによって Thiamine 脱硫にもとづく分解反応が促進することを見出し、新しい脱硫成績体として Desthiothiamine (VI) を単離した。Desthiothiamine はグリシン無添加の Thiamine アルカリ水溶液中でも Diazepine 体の生成と同時にみとめられる。

そこでアルカリ域での Teiamine 脱硫反応をさらに検討して反応成績体の生成関係および関連性を究明し、その検討と関連して、Thiamine とヒドロキシルアミンの反応で Hydroxyiminothiamine (VII) を得る脱硫置換反応とは別に Thiamine とヒドロキシルアミンの縮合反応による反応成績体として、新たに Diazinotothiamine (VIII) を分離し、Hydroxyiminothiamine との生成関係を求め、さらに Diazinotothiamine の生物にたいする影響をしらべて以下の成績を得た。

#### 1) アルカリにおける Thiamine からの Desthiothiamine および Diazepine 体の生成

Desthiothiamine および Diazepine 体は Thiamine の脱硫分解反応によって生成するが、酵母の Thiamine 生合成能を用いた生物学的定量法を用いて Thiamine のアルカリ溶液から生成する両物質を分別定量し、両物質の生成関係を量的に証明することができた。

Desthiothiamine および Diazepine 体の生成は反応溶液中にグリシン等のアミノ酸が共存することによって Desthiothiamine の生成が促進され、Diazepine 体の生成は抑えられるが、本定量によって Thiamine の脱硫がおこるアルカリ条件ではグリシンの有無に関係なく Desthiothiamine と Diazepine 体がつねに生成していることが明らかになった。さらに両者の生成は Thiamine-HCl にたいする NaOH 量が 2~3 モル比で最大となり、グリシン共存により Desthiothiamine の生成が、またグリシン不存により Diazepine 体の生成がそれぞれ促進されることが確認された。

#### 2) Desthiothiamine と Diazepine 体および Furothiazine 体との関連性

Desthiothiamine と Diazepine 体は密接な構造関連性を有し、Thiamine からの生成される点において類似点が多いので液性を変えて両物質の変化を詳細に検討した。

その結果、Desthiamine と Diazepine 体は酸性域だけでなく、アルカリ性域でも緩和な条件下で非水溶媒あるいは pH 8~10 の緩衝液中で加熱することによって両者の相互変換がみとめられた。

また両物質は酸性水溶液中でともに N-CHO 基が脱ホルミル化されて、Desthiothiamine の脱ホルミル体になるがアルカリ性でもこの変化が容易におこることを明らかにした。さらに以上の脱硫化合物が高アルカリ性で Thiamine のアルカリ分解産物である  $\gamma$ -Mercapto- $\gamma$ -acetopropylalcohol と反応して収率良く Furothiazine 体になることがわかり、アルカリ性域における De-

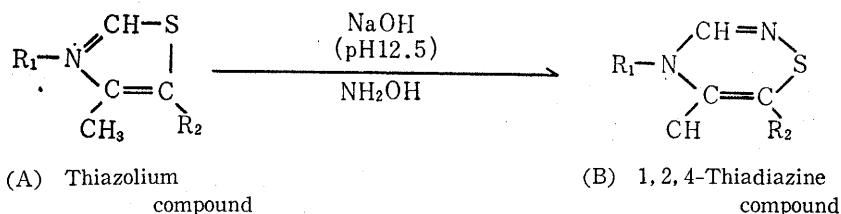
sthiothiamine および Diazepine 体と Furothiazine 体の関連がより明確になった。

### 3) Thiamine とヒドロキシルアミンの反応による Diazinothiamine の生成

Thiamine の脱硫反応はアミノ酸のほかにケトン試薬を共存させることによっても促進され、その際ケトン試薬との反応による脱硫置換成績体を得られるが、同反応を高アルカリ域 (Thiamine-HCl にたいする NaOH モル比が3以上になる) で検討したところ、Thiamine とヒドロキシルアミンの反応において pH 12.5 前後で脱硫にもとずかない反応が進行し、新反応成績体として Diazinothiamine を分離した。

Diazinothiamine は 10~20°C の低温で Thiamine-HCl にたいする NaOH 量が3モル比で Thiamine とヒドロキシルアミンの反応から特異的に生成する安定な化合物であり、その構造を thiol 型 Thiamine にヒドロキシルアミンが結合して閉環反応をおこして Thiamine の Toiazole 部が 1,2,4-Thiadiazine の環構造になった化合物 (VIII) であることを推定した。

1,2,4-Thiadiazine 環の形成反応は Thiamine のほかに Dimethialium, Oxythiamine および N-Benzylthiazolium においてもみとめられ、下記に示す 1,2,4-Thiadiazine 同族体を得られて高アルカリ性で Thiazolium 塩から Thiadiazine 化合物を得る閉環反応であることが明らかになった。



| (A)                | (R <sub>1</sub> )                               | (R <sub>2</sub> )                 | (B) Reaction product<br>°C (decomp.) |
|--------------------|---|-----------------------------------|--------------------------------------|
| Dimethialium       | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> N <sub>3</sub> -  | -CH <sub>3</sub>                  | ca. 320                              |
| Oxythiamine        | C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> ON <sub>2</sub> - | -C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> OH | 255~257                              |
| N-Benzylthiazolium | C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> -                 | -C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> OH | 155                                  |

### 4) Diazinothiamine の生物にたいする Antithiamine 作用について

Diazinothiamine は Thiamine 要求性微生物 *L. fermenti* にたいして 10<sup>-2</sup>M の高濃度で増殖抑制を示さなかったが、*Kl. apiculata* にたいしては同濃度で増殖抑制を示し、Thiamine の添加により回復された。

また Diazinothiamine の *Kl. apiculata* ならびに *Sacch. cerevisiae* の Thiamine 集積作用にたいする阻害効果も Pyrithiamine, PTT に比較して弱く、Thiamine が容易に菌体へ取り込まれ、Diazinothiamine による菌の増殖抑制が弱い点と関連があることがみとめられた。

シロネズミにたいしては、Diazinothiamine それ自身 Thiamine 活性を持たず、Thiamine 欠乏シロネズミにたいして Thiamine-HCl の1,000倍量の Diazinothiamine と同時経口投与する

ことによって Antithiamine 作用を示した。Diazinothiamine の Antithiamine 作用は Thiamine と同時経口投与による腸管吸収での取り込み競合阻害が起因しているものと考えられる。

## 結 論

1) Thiamine のアルカリ域における脱硫分解反応で生成する Desthiothiamine と Diazepine 体を酵母の Thiamine 生合成能を利用した定量法を用いて分別定量し、両者の生成関係を量的に明らかにした。さらに Desthiothiamine と Diazepine 体の相互関連性を証明することによって、高アルカリ性でから分解生成する Furothiazine 体とこれら脱硫成績体との関連についてより明確にした。

2) Thiamine の高アルカリ性での反応として、Thiamine とヒドロキシルアミンの新反応を見出し反応成績体として Diazinothiamine を単離し、その性状ならびに化学構造を明らかにした。

本反応は Thiamine 関連化合物に共通な閉環反応であり、Thiazolium 化合物から Thiadiazine 化合物を得る反応であることがわかった。

3) Diazinothiamine の Thiamine 要求性微生物 *Kl. apiculata* およびシロネズミにたいする Antithiamine 作用が比較的弱いことを明らかにし、その阻害機構を検討した。

## 論文の審査結果の要旨

チアミンのアルカリ域での脱硫反応により生成する Desthiothiamine と Diazepine 体との量的関係を定量的に測定し、その生成におよぼすアミノ酸添加の意義を明久にした。また強アルカリ性でチアミンとヒドロキシルアミンとの反応により閉環縮合し Diazinothiamine を生成することを発見し、その化学構造・生物化学的性状を解明した。よって本論文は薬学博士の学位を授与するに値するものとみとめる。