

氏名 柿 本 年 雄
かき もと とし お
 学位の種類 薬 学 博 士
 学位記番号 薬 博 第 33 号
 学位授与の日付 昭 和 38 年 6 月 25 日
 学位授与の要件 学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
 研究科・専攻 薬 学 研 究 科 薬 学 専 攻
 学位論文題目 ニンニク中の含硫アミノ酸同族体の研究

(主 査)
 論文調査委員 教 授 鈴 木 友 二 教 授 井 上 博 之 教 授 高 木 博 司

論 文 内 容 の 要 旨

植物の含硫アミノ酸の生合成について系統的にしらべた報告は特定の属の植物に限った場合でも少い。著者は含硫アミノ酸同族体を多量に含むと考えられた *Allium* 属のもので、これらアミノ酸の生合成をしらべようとし、ニンニクを研究材料として、以下の研究を行なった。

まず放射性硫酸からの含硫アミノ酸の生成の時間的追跡を行ない、水耕中の根、鱗茎、地上部における³⁵Sの分布を時間的にしらべた。その結果は次表のとおりであったが、別に地上部のみを切りとって切花

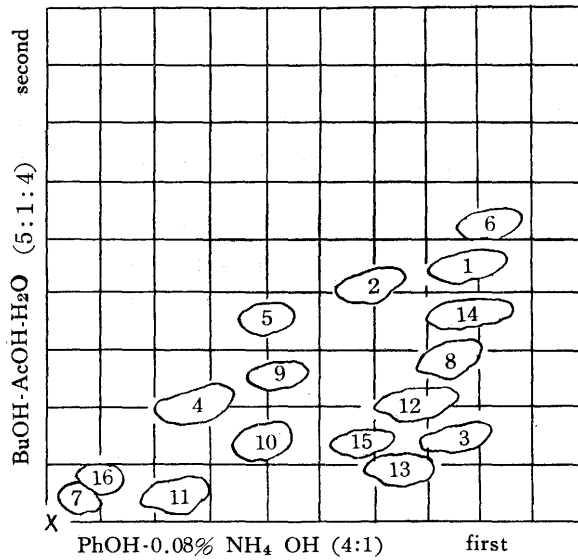
Change of radiosulfur in each fraction in garlic

		Specific activity ($\mu\text{C}/\text{mgS}$)			
		30 mins.	2 hrs.	24 hrs.	10 days*
Root	Amino acid fraction	0.536	3.227	61.818	0.063
	Protein fraction	0.044	0.167	1.847	7.550
Aerial Part	Amino acid fraction	0.021	0.153	1.272	0.955
	Protein fraction	0.008	0.023	1.364	4.287
Buld	Amino acid fraction	0.014	0.183	3.879	11.908
	Protein fraction	0.015	0.042	4.757	12.329

*After 5 days' feeding with $^{35}\text{SO}_4^{2-}$, continuously 5 days' cultivation without $^{35}\text{SO}_4^{2-}$

式に栽培したときの結果をも併せて、含硫アミノ酸は根および地上部で合成され、鱗茎へ移行されて貯蔵されると考えた。また、本実験によって比活性の大きいアミノ酸混合物を得るための水耕条件がわかったので、その部分を分離し、既知ならびに新含硫アミノ酸を検索しつつ、生合成の様子をしらべた。すなわちイオン交換樹脂で分離したアミノ酸混合物から、濾紙クロマトグラフィーと、そのラジオオートグラフィーを行い、30分の栽培で根にシスチンを (Spot 11)、24時間の栽培で、根、鱗茎、地上の3部ともにシスチンのほか、約15種のスポットを認めた (Fig 1)。おもにアミノ酸画分のカラムクロマト法で、これら16

Fig. 1 Radioautogram of ^{35}S -containing amino acids and related compounds in garlic

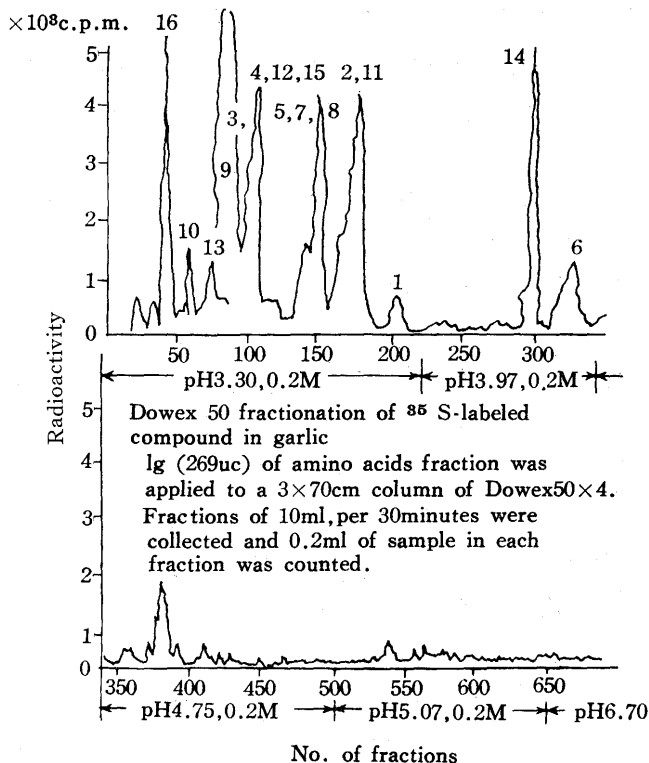


種類の化合物の分離につとめ (Fig 2), それぞれを結晶としてえて, 合成品との同定などにより確認したが, 分離同定したアミノ酸同族体を Fig 1 の Spot No. に対応させて示すと, つぎのとおりである。

Spot No.	Compound
1	S-Allylcysteine
2	γ -Glutamyl-S-allylcysteine
3	Cycloalliin (3-Methyl-1, 4-thiazane-5-carboxylic acid 1-oxide)
4	S-(2-Carboxypropyl) glutathione
5	S-(2-Carboxypropyl) cysteine
6	S-propylcysteine
7	γ -Glutamyl-cysteine
8	S-Methylcysteine
9	γ -Glutamyl-S-methylcysteine
10	γ -Glutamyl-S-methylcysteine sulfoxide
(11)	Cystine
(12)	Alliin (S-Allylcysteine sulfoxide)
(13)	S-Methylcysteine sulfoxide
(14)	Methionine
(15)	Methionine sulfoxide
(16)	Cysteic acid

Spot No. を括弧で囲んだもの以外の化合物は著者がこの研究を始めてから新しくニンニク中にみいだ

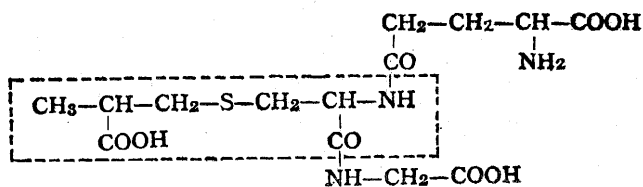
Fig.2



した物質である。3および4の物質は時を同じくして Virtanen らによってタマネギから分離され、同氏によって一足先に構造がきめられたものであるが、著者らも別にこれら研究と平行してその構造を確認した。

著者が分離同定したものの中には、S-Allyl-, S-Propyl-, S-Methyl-等の S-Alkylcysteine 類があるが、それらの Sulfoxide類もニンニク中にあり、このように Sulfoxide とそれに対応した Alkylcysteine を同一植物から分離しえたことは今回がはじめてである。このことから、S-Alkylcysteine 類を Sulfoxide 類の前駆物質と考えてよいと思う。

また、分離したペプチドは全て γ -Glutamyl 誘導体でグルタチオンの前駆物質あるいはその同族体であったことも興味深い。その中の一つ S-(2-Carboxypropyl) glutathione の式中の枠で囲んだ部分、すなわち S-(2-Carboxypropyl) cysteine は時を同じくして、



岡山大学の水原教授によって高血圧患者の尿から検出された物質である。

つぎに、上の化合物のうち興味ある2, 3の新物質について、その生合成機構、動物体内における変化をしらべた。

従来、生体内でメルカプツール酸解毒が行なわれる時には摂取されたシステインは役立たず、体内ではまずグルタチオンとの縮合が起こるとする考えがあるが、現在までその積極的証明はない。今回グルタチオンのS位で結合したS-(2-Carboxypropyl) glutathioneが植物からではあるが、始めて天然にみつけられたのであり、かつ水原氏がその構造の一部のシステイン誘導体を尿から分離していることから考え、上の化合物をメルカプツール酸生成と結びつけて考えた。そこで著者はS-(2-Carboxypropyl) glutathioneを合成し、家兔に静注して、尿中排泄物をしらべ、1—9時間で大部分はS-(2-Carboxypropyl) cysteineとなり、一部はNがアセチル化されたメルカプツール酸となっていることを認めた。

また水原氏は上のS-(2-Carboxypropyl) cysteineを高血圧の患者から分離しているので、著者らの分離したS-(2-Carboxypropyl) glutathioneも生理的に意味ある化合物であると考え、Carboxypropyl基の由来をしらべようとした。著者はCarboxypropyl基はおそらくmethylacryl CoAとグルタチオンとの縮合によったとの考えのもとに、turnoverの最も活潑な根の組織培養を行ない、uniform labelの ^{14}C -バリンを添加してしらべ、予想の通り、上記物質のCarboxypropyl部分のみに放射能を認め、この基がバリンに由来することをはっきりさせた。またこの際ロイシンにも強い放射能を認めたので、このロイシンの分解実験で ^{14}C の分布をしらべ、バリンからのロイシンの生合成経路は植物においても、微生物の場合と同じであろうと推定した。

なお、以上の含硫アミノ酸とその同族体のほか1—2の物質を分離したが、それらは新物質 γ -Glutamyl-phenylalanineおよび既知物質ピペコリン酸である。

論文審査の結果の要旨

植物の含硫アミノ酸の生合成について系統的にしらべた報告は特定の属の植物に限った場合でも少ない。著者は含硫アミノ酸同族体を多量に含むと考えられたAllium属のもので、これらアミノ酸の生合成をしらべようとし、ニンニクを研究材料として、以下の研究を行なった。

まず放射硫酸からの含硫アミノ酸の生成の時間的追跡を行ない、水耕中の根、鱗茎、地上部における ^{35}S の分布を時間的にしらべた。また、別に地上部のみを切りとって切花式に栽培したときの結果をも併せて、含硫アミノ酸は根および地上部で合成され、鱗茎へ移行されて貯蔵されると考えた。また、本実験によって比活性の大きいアミノ酸混合物を得るための水耕条件がわかったので、既知ならびに新含硫アミノ酸を検索しつつ、生合成の様子をしらべた。すなわちイオン交換樹脂で分離したアミノ酸混合物から、濾紙クロマトグラフィーと、そのラジオオートグラフィーを行ない、30分の栽培で根にシスチンを、24時間の栽培で、根、鱗茎、地上の3部ともにシスチンのほか、約15種のスポットを認めた。おもにアミノ酸画分のカラムクロマト法で、これら16種類の化合物の分離につとめ、それぞれを結晶としてえて、合成品との同定などにより確認したが、分離同定したアミノ酸同族体は

- 1) S-Allylcysteine,
- 2) γ -Glutamyl-S-allylcysteine,

- 3) Cycloalliin,
- 4) S-(2-Carboxypropyl) glutathione,
- 5) S-(2-Carboxypropyl) cysteine,
- 6) S-Propylcysteine,
- 7) γ -Glutamyl-cysteine,
- 8) S-Methylcysteine,
- 9) γ -Glutamyl-S-methylcysteine,
- 10) γ -Glutamyl-S-methylcysteine sulfoxide,
- 11) Cystine,
- 12) Alliin,
- 13) S-Methylcysteine sulfoxide,
- 14) Methionine,
- 15) Methionine sulfoxide,
- 16) Cysteic acid.

1) ~9) 以外の化合物は著者がこの研究を始めてから新しくニンニク中にみいだした物質である。3および4の物質は時を同じくして Virtanen らによってタマネギから分離され、同氏によって一足先に構造がきめられたものであるが、著者らも別にこれら研究と平行してその構造を確認した。

著者が分離同定したものの中には、S-Allyl-, S-Propyl-, S-Methyl-等の S-Alkylcysteine 類があるが、それらの Sulfoxide 類もニンニク中にあり、このように Sulfoxide とそれに対応した Alkylcysteine を同一植物から分離しえたことは今回がはじめてである。このことから、S-Alkylcysteine 類を Sulfoxide 類の前駆物質と考えてよいと思う。

また、分離したペプチドはすべて γ -Glutamyl 誘導体でグルタチオンの前駆物質あるいはその同族体であったことも興味深い。その中の1つ S-(2-Carboxypropyl) glutathione の構造部分の S-(2-Carboxypropyl) cysteine は時を同じくして、水原によって高血圧患者の尿から検出された物質である。

つぎに、上の化合物のうち興味ある2, 3の新物質についてその生合成機構、動物体内における変化をしらべた。

従来、生体内でメルカプツール酸解毒が行なわれる時には摂取されたシステインは役立たず、体内ではまずグルタチオンとの縮合が起こるとする考えがあるが、現在までその積極的証明はない。著者は S-(2-Carboxypropyl) glutathione を合成し、家兔に静注して、尿中排泄物をしらべ、1~9時間で大部分は S-(2-Carboxypropyl) cysteine となり、1部は N がアセチル化されたメルカプツール酸となっていることを認めた。

また水原が S-(2-Carboxypropyl) cysteine を高血圧の患者から分離しているので、著者らの分離した S-(2-Carboxypropyl) glutathione も生理的に意味ある化合物であると考え、Carboxypropyl 基の由来をしらべようとした。著者は Carboxypropyl 基はおそらく methylacryl CoA とグルタチオンとの縮合によったとの考えのもとに、turnover の最も活潑な根の組織培養を行ない、uniform label の ^{14}C -バリンを

添加してしらべ、予想のとおり、上記物質の Carboxypropyl 部分のみに放射能を認め、この基がバリンに由来することをはっきりさせた。またこの際ロイシンにも強い放射能を認めたので、このロイシンの分解実験で ^{14}C の分布をしらべ、バリンからのロイシンの生合成経路は植物においても、微生物の場合と同じであろうと推定した。

なお、以上の含硫アミノ酸とその同族体のほか1—2の物質を分離したが、それらは新物質は γ -Glutamyl-phenylalanine および既知物質ピペコリン酸である。

本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認定する。