

氏名	山田弘生
	やま だ ひろ み
学位の種類	理学博士
学位記番号	理博第78号
学位授与の日付	昭和39年3月23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	理学研究科化学専攻
学位論文題目	<b>Studies on the cholagogue substances of Seta-Shijimi</b> <b>(Corbicula sandai Reinhardt)</b> (シジミの利胆成分に関する研究)
論料調査委員	(主査) 教授 田中正三 教授 後藤良造 教授 藤永太一郎

### 論文内容の要旨

シジミの煮汁は民間薬として古くから黄疸の治療に用いられてきているが、これに含有されている有効成分やその作用については、現在までにまとまった研究がなく、僅かに萱場、堀江、木谷、堀らによって胆汁の分泌を促進する因子の存在が証明されているに過ぎなかった。

著者はセタシジミの熱水抽出物中に胆汁色素の分泌を促す物質が存在することを確かめて、これの単離と精製とを行ない、その物理的、化学的性質について研究を行なった。

主論文第一部はシジミ抽出液中に含まれている有効成分の確証とその作用およびこれの定量法に関する研究である。ウサギを5%のペントバルビタールを用いて麻醉させたのち、さらに、腹部に局部麻酔剤を注射し、開腹して輸胆管をとり出し、できるだけ十二指腸に近い位置でこれに直径1mmのカニューレを挿入する。別にさらに、1本の同一のカニューレを十二指腸に挿入し、この二つの管の末端をゴム管で連結して胆汁が消化管に流入するようにし、必要に際してこのゴム管の連絡を開いて胆汁を採取できるようにする。普通この手術のあとは胆汁分泌量やその含有成分は異常に増加するが、6時間後には常態に戻るから、有効成分の追究の実験には常に手術後6時間以上を経過したウサギを試験生物として用いた。この施術したウサギの大腿部の筋肉に検定しようとする溶液を注射し、30分ごとに胆汁を採取してその総容量、胆汁酸量および胆汁色素量を測定した。胆汁酸としてはコール酸とデオキシコール酸とを Singer の方法によって比色定量し、胆汁色素は、その吸収スペクトルが波長675 $\mu$ に最大吸収を示すことからビリベルジンは主成分であるとして、675 $\mu$ においてスペクトロフォトメトリーを行なって定量した。

シジミの抽出液は、貝を殻ごとその半量の水と煮沸してえられるものを濃縮し、1kgの貝につき20ml程度の溶液とし、析出する不溶性物質を遠心分離器を用いて除去して調製した。試験生物に、対照として生理的食塩水の筋肉注射を行なっても胆汁分泌量やこれの成分濃度には変化が認められないが、シジミの抽出液を注射すると30分以内にビリベルジン濃度が高まり、130~300%に達して、この状態が数時間継続する。しかし、胆汁の容量や胆汁酸量にはほとんど変化が認められなかった。この効果は、あらかじめ胆

ノウを除去してあるウサギにも明瞭に認められるから、シジミの有効成分の作用は、単なる胆ノウの収縮促進のようなものではなく、肝細胞におけるビリベルジン生成に関連するものと判断された。同一個体のウサギを用いて実験すると、抽出液の使用量とビリベルジン濃度の増加との間には定量的関係が認められ、この方法を用いて有効成分の追跡や定量を行なうことができることが明らかになった。この方法を用いて、この有効物質がセロファン膜を透過し、活性炭に吸着されるが50%エタノールで溶離され、熱には酸性では比較的安定であるが、アルカリ性では速やかに活性を失なうことなどが明らかになった。

主論文第二部はシジミの有効成分の単離、精製とその特質とをしらべた研究である。シジミの熱水抽出液に活性炭を加えて有効成分を吸着させ、これのエタノール溶出液を、イオン交換樹脂のDowex 50のNa型、Dowex 1のCl型Amberlite IR-120のH型およびAmberlite IR-4Bの酢酸型を組合せて分画すると、中性および塩基性画分には利胆作用がなく、酸性画分のみが強い活性を示した。この酸性画分の溶液について、さらに、Dowex 1を用いるイオン交換樹脂クロマトグラフィーと濾紙ゾーンクロマトグラフィーとを行ない、ついに、 $R_f$ 値の異なる2種の活性物質をとり出すことに成功したが、その収量はともにシジミ100kgより1mg以下であった。この方法は大量のシジミを処理するには繁雑に過ぎるので、改良を加えて熱水抽出液から直接Amberlite IR-4Bの酢酸型に有効成分を吸着させて分離したのち1.7N HClで溶出する方法を考案し、これによって1.2トンのシジミから、それぞれ、10mgおよび2mgの収量で黄色の結晶として有効成分を単離した。前者は100 $\gamma$ で明らかにウサギの胆汁色素分泌促進効果を示し、その水溶液は230, 260, 290および370 $m\mu$ に吸収帯をもつ特徴ある吸収スペクトルを与え、また、紫外線照射で強い青白色蛍光を発生しながら分解する。後者の作用濃度は10 $\gamma$ で、その水溶液は258, 290, 360 $m\mu$ に吸収帯を示し、紫外線照射で緑黄色の蛍光を発生する物質である。また、両者ともに250°C以下では融解せず、熱水と50%酢酸のほかはエーテル、アセトン、クロロホルムなどの有機溶媒には全く溶解しない。これらの諸性質から、著者はシジミ熱水抽出液中の有効物質はプテリジンの誘導体である公算が大きいとしている。

参考論文9編のうち、その1よりその4まではイネの病害菌のイモチ菌に関する生化学的研究であり、その1, その2はグルコースよりマンニトールを生成する新しい嫌気代謝経路の研究、その3は、それぞれL-乳酸およびD-乳酸に作用する脱水素酵素の確認、その4は、NADおよびNADPを助酵素とするグルタミン酸脱水素酵素の研究で、いずれもイモチ菌の代謝に関する価値ある研究である。その5, 6および7は、Pseudomonasのキヌレン酸代謝に関するもので、キヌレン酸が7・8-ジヒドロキシキヌレン酸を経由してグルタミン酸と酢酸とに分解することを明らかにしている。また、その8は、タウリンの新しい代謝経路について研究したものであり、その9はNADP調製法の改良に関する研究である。

### 論文審査の結果の要旨

シジミの煮汁は古くから黄疸に特効がある民間薬として広く利用されてきているものである。

著者はこれに科学的なメスを加えて、その中に微量で胆汁色素の分泌を促進する作用をもつ有効成分が含まれていることを明らかにし、これの単離、精製とその物理的、化学的性質について研究し、すぐれた成果をあげている。

まず、著者はシジミの熱水抽出液中に存在する有効物質の確認、定量とこの物質の肝に対する作用とを明らかにする方法について研究し、ウサギの輸胆管にカニューレを挿入して必要に応じて胆汁を採取し、これに含有されている胆汁色素および胆汁酸を定量することによって、有効物質の効果を測定することに成功している。すなわち、ウサギの大腿部の筋肉に有効物質を含む溶液を注射すると、30分以内に胆汁中のビリベルジン濃度の増加がみられ、この効果は数時間継続する。しかし、胆汁容量や胆汁酸の量にはほとんど変化が認められなかった。同一個体のウサギについては、注射した有効物質とビリベルジンの分泌量との間には比例的関係が成立するから、この方法によって有効物質の定量を行なうことができる。

この方法で有効物質を追跡しながら、大量のシジミの熱水抽出液について活性炭吸着、種々のイオン交換樹脂を利用する分画、樹脂クロマトグラフィーおよび濾紙ゾーンクロマトグラフィーなどを組合せる精製法によって有効物質の単離と精製とを行ない、ついに、2種の活性物質を結晶としてとり出すことに成功した。これらの収量はシジミ1.2トンから僅かに10mgおよび2mgの微量であるが、前者は100r、後者は10rで明らかに施術ウサギにビリベルジン分泌促進が認められる強い作用をもっている。これらの物質は、ともにセロファン膜を透過する分子量の大きくない酸性物質であり、250°C以下では融解せず、また、熱水や希酢酸以外にはほとんどの有機溶媒には溶解しない。これらの諸性質と紫外線吸収スペクトルおよび紫外線照射による蛍光などから、著者は、これらの有効物質をプテリジンの誘導体であると推定している。

著者は、大量のシジミを材料としてすぐれた着想と緻密な実験とによって有効物質を追いつめながら、その含量が微量であるために最終的な化学構造の決定には至らなかったが、この研究全般の成果は高く評価することができる。

また、参考論文9編の大部分は微生物の新しい代謝経路の解明とこれに関与する酵素についての研究であり、いずれも価値あるものである。

以上のように、著者山田弘生の論文は、微量作用物質の研究としてはすぐれたものであり、生化学領域でのこの分野に新しい知見を加え、その進歩発展に寄与するところが少なくない。

よって本論文は理学博士の学位論文として価値があるものと認める。