

Ascorbin 酸 の 研 究 (第5報)

Ascorbin 酸と Thiaminとの關係に就きて (其の一)

近 藤 研 究 室

農 學 士 藤 村 吉 之 助

A. 緒 論

近年 Vitamin, 酵素及び Hormone に關する研究が非常に進歩した結果此等三者の本質が次第に闡明さるゝに到つた. H. v. Euler の所謂 Ergone なるものは生體細胞内に於いて Co-Enzyme として作用上酵素に最も類似の關係にある. 元來 Vitamin 類が生體内に於いて本來の使命を完全に遂行する爲めには少くとも各種の Vitamin 類が量的に平衡を保たねばならない事は容易に考へらるゝ所である. 其の一つの例として Vitamin 類の或る種類例へば Vitamin A 及び D, Vitamin A 及び B, Vitamin A 及び C 又は Vitamin D 及び B 等の間には antagonistic 又は synergistic の關係のある事が生物學的に實驗せられて居る. 而して生體の完全なる營養的效果を期する爲めには此等 Vitamin 類の間に一定の平衡が保たるゝと共に又他方に於いて多數の營養素類がそれ等各自に於いて平衡を保つと共に Vitamin 類に對しても亦それぞれ一定の平衡を保たねばならないであらう. 斯くの如く考へる時は各營養素の間の量的關係は甚だ複雑極まるものとなるのであるが其の複雑限りなき關係を明かにする爲めには先づ單一なる個々の Factor 即ち個々の營養素間の關係から出發しなければならない事は勿論であるが從來此の種の研究領域は主として無機物質間相互の關係に限られて居るものゝ如くであつて比較的最近に到りて Ergone の間の關係の研究が著しく行はるゝに到つたけれども Vitamin C と B との關係に就きての研究は餘り見當らない. のみならず從來 Vitamin 類の間の antagonistic 又は synergistic の研究は生物學的研究の域を脱して居ないと云つてよいであらう, 従つて其の相互的關係の本来の化學反應の様式に到つては殆んど知られて居ない. 假令生物學的不是としても此の種の實驗に供せられたる Vitamin 類製品は決して化學的純一なるものとは稱し難い, 故に其の成績に就きては充分の考慮を以て臨まらるべきであらう, 殊に之等 Vitamin 類が極微量にて充分に作用し得る所の生體接觸反應をなすものとすれば尙更の事である, 此處に於いて著者は結晶 Ascorbin 酸の自己酸化に對し之れに結晶 Thiamin

を作用せしめ此の反應に於いて Thiamin が如何なる影響をなすかに就きて實驗し其の關係の一端を明かにし得たから其の結果を報告する次第である。

B. 實驗成績及び其の考察

1. Ascorbin 酸の自然酸化に對する Thiamin の作用.

(+) Ascorbin 酸溶液 (0.5%) 調製.

(-) Thiamin 溶液 (0.1%) 調製.

此等二溶液の調製に當つてはいづれも Sørensen 氏磷酸緩衝液 pH. 5.28 を以て溶媒とした。試験液の組成は第一表の通りである。

第 1 表

Ascorbin 酸に對する Thiamin の作用を實驗すべき試験液の組成.

試 験 液		I	II	III
項 目				
Ascorbin 酸溶液0.5%	cc.	2	2	2
	mg.	10	10	10
Thiamin 溶液0.1%	cc.	0	10	40
	mg.	0	10	40
Sørensen 氏磷酸緩衝液 pH 5.28	cc.	48	38	8
總 量	cc.	50	50	50

上記第一表の各試験液を $24 \pm 1^\circ\text{C}$ の恒温器中に靜置して Ascorbin 酸の空氣中に於ける自然酸化に對し Thiamin が如何なる影響を及ぼすかを實驗する爲めに一定時間後に於いて各試験液中に残存する Ascorbin 酸を定量した。定量方法は總て第一報記載の通りである。但し試料は10倍稀釋液 4 cc を用ゐた其の成績を第二表並び第一圖に示す。

第 2 表 I

Ascorbin 酸の自然酸化に對する Thiamin の作用下に於ける Ascorbin 酸量の變化 I

實驗溫度 $24 \pm 1^\circ\text{C}$.. PH=5.28 (實驗の前後に於いて PH は變化せず)

試 験 液		I	II	III
項 目		0 分 後		
滴 定 値 cc.	1	0.70	0.70	0.69
	2	0.70	0.70	0.70
	M.	0.70	0.70	0.695
殘 存 量	mg.	7.70	7.70	7.64

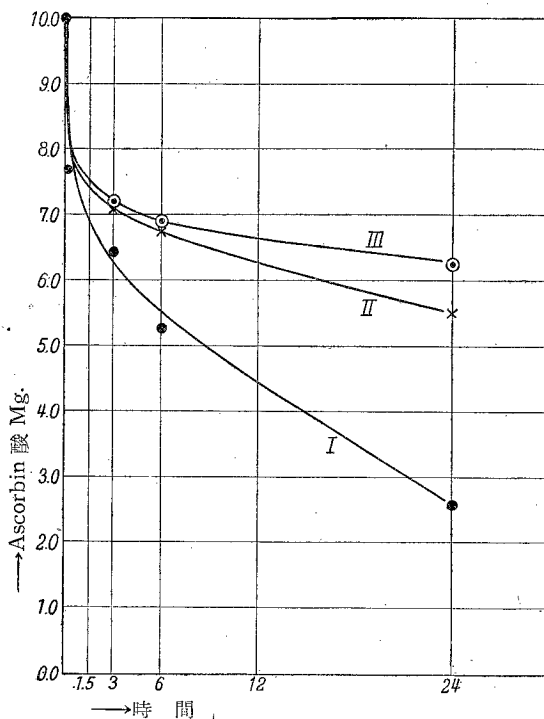
(+) Bubeck & Dolder, Basel, Switzerland.

(-) Hoffmann-La Roche Co.

1 時 間 20 分 後					
滴 定 值	cc.	1	0.64	0.64	0.64
		2	0.64	0.64	0.64
		M.	0.64	0.64	0.64
殘 存 量		mg.	7.04	7.04	7.04
3 時 間 後					
滴 定 值	cc.	1	0.58	0.64	0.66
		2	0.59	0.65	0.65
		M.	0.585	0.645	0.655
殘 存 量		mg.	6.43	7.09	7.20
6 時 間 後					
滴 定 值	cc.	1	0.48	0.62	0.625
		2	0.48	0.61	0.625
		M.	0.48	0.615	0.625
殘 存 量		mg.	5.28	6.76	6.87
第 2 表 II					
試 驗 液		I II III			
項 目					
24 時 間 後					
滴 定 值	cc.	1	0.23	0.49	0.56
		2	0.23	0.50	0.56
		M.	0.23	0.495	0.56
殘 存 量		mg.	2.52	5.45	6.16

第 一 圖

Ascorbin 酸 の自然酸化に對し Thiamin の作用下に於ける Ascorbin 酸の量的變化. I



次に第二表の成績を確むる爲め更に第三表の如き試験液を調製し實驗を反覆繰返へして見た。但し此の實驗に於いては比較の爲め Ascorbin 酸と Glutathione の混合試験液に就きての實驗(第三報²⁾及び第四報³⁾の場合の如く Sample に Formaldehyde を加へ、これを 1.5 時間 27°C の室温に靜置したる後 Ascorbin 酸を定量した。使用したる試験液の組成並びに成績を第三表、第四表及び第二圖に示す。

第 3 表
試 験 液 の 組 成

試 験 液		I	II	III	IV
項 目					
Ascorbin 酸溶液 (0.5%)	cc.	2	2	2	2
	mg.	10	10	10	10
Thiamin溶液 (0.1%)	cc.	0	10	25	40
	mg.	0	10	25	40
Sørensen氏磷酸緩衝 液 PH 5.28	cc.	48	38	23	8
總 量	cc.	50	50	50	50

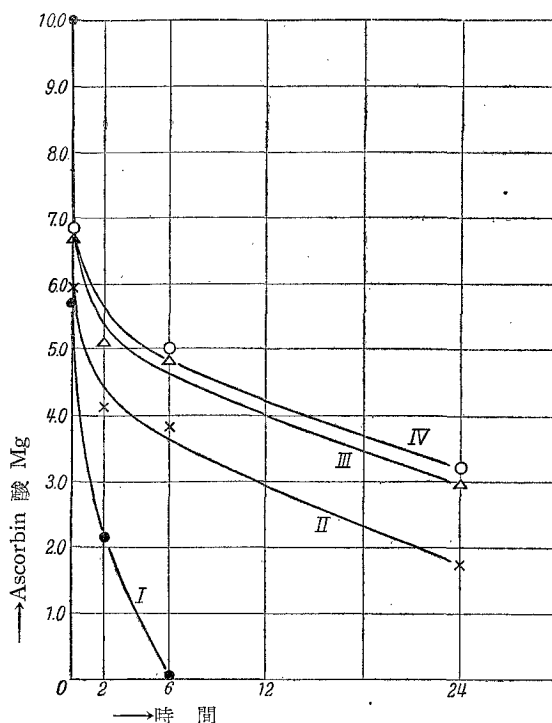
第 4 表

Ascorbin 酸の自然酸化に對する Thiamin の作用下に於ける Ascorbin 酸量の變化。
(實驗溫度 27°C, 試料に H-CHO 添加, PH=5.28 PH は實驗の前後に於いて變化なし)

試 験 液		I	II	III	IV
項 目		0 分 後			
滴 定 値	1	0.52	0.54	0.61	0.625
	2	0.52	0.54	0.61	0.615
	M.	0.52	0.54	0.61	0.620
殘 存 量	mg.	5.72	5.94	6.71	6.82
2 時 間 後					
滴 定 値	1	0.20	0.38	0.46	0.49
	2	0.19	0.37	0.46	0.49
	M.	0.195	0.375	0.46	0.49
殘 存 量	mg.	2.14	4.12	5.06	5.39
6 時 間 後					
滴 定 値	1	0.00	0.35	0.44	0.45
	2	0.00	0.35	0.44	0.46
	M.	0.00	0.35	0.44	0.455
殘 存 量	mg.	0.00	3.85	4.84	5.00
24 時 間 後					
滴 定 値	1	—	0.16	0.27	0.27
	2	—	0.16	0.27	0.275
	M.	—	0.16	0.27	0.2725
殘 存 量	mg.	—	1.76	2.97	3.00

第 二 圖

Ascorbin 酸の自然酸化に於いて Thiamin 作用下に於ける Ascorbin 酸の量的變化. II



以上二つの實驗成績からして對照試驗溶液 I に比較して Thiamin を作用したる試験液に於いては明かに Thiamin は Ascorbin 酸の自然酸化を保護し得る事が諒解し得られる、而も其の保護作用の大いさは Ascorbin 酸に作用する Thiamin の量に比例する事尙 Glutathione のそれと同様なる事も察知し得られるのである。又 Thiamin の Ascorbin 酸保護作用も Glutathione のその場合と同様に生體酵素の介在を要せずして反應は極めて圓滑に進行する事もわかるのである。而して第二表と第四表との結果を比較するに Ascorbin 酸の定量値は前者に在て大である。その理由は後者は 27°C の室温中に於ける實驗であると同時に試料の操作に $\text{H}\cdot\text{CHO}$ を用ゐたる事に依りて Ascorbin 酸の一部分が酸化された結果である。然らば Ascorbin 酸保護作用の大いさに就き Glutathione と Thiamin とに於いて幾何の相違があるか。

之れに就きて實驗する爲めに同一量の Ascorbin 酸に對し同一量の Glutathione と Thiamin とを同時に同一條件の下にて作用せしめて見た、實驗溫度は $24^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、實驗開始後四時間にして Ascorbin 酸を定量した。其の時の試験液は第三表のそれと同一にして唯だ Glutathione と Thiamin とを交互に變へたのである。其の成績を第五表及び第三圖に示めす、(但し

使用したる Sample は 10倍稀釋液 4cc である)

第 5 表

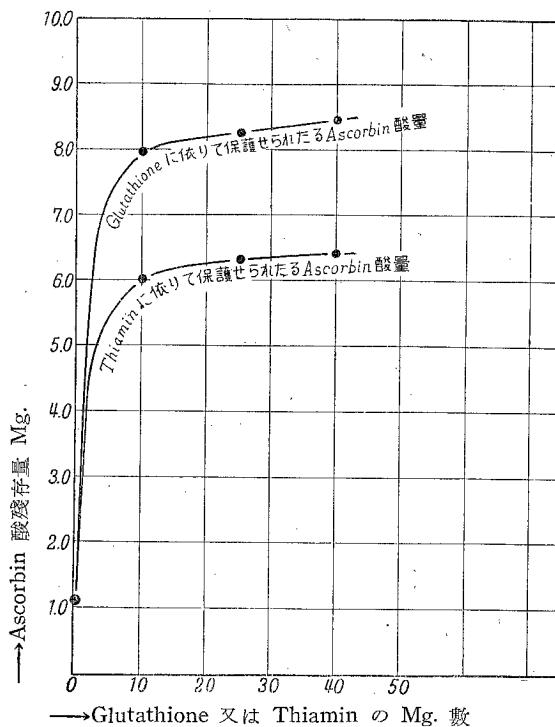
Ascorbin 酸に對する Glutathione 並びに Thiamin の保護作用力の比較.

實驗溫度 $24^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$. PH=5.28 實驗開始後 4 時間に於ける比較.

項 目		試 驗 液				
		I	II	III	IV	
Glutathione に依る保護作用						
滴 定 値	cc.	1	0.10	0.73	0.75	0.78
		2	0.095	0.72	0.75	0.77
		M.	0.0975	0.725	0.75	0.775
殘 存 量		mg.	1.07	7.97	8.25	8.52
Thiamin に依る保護作用.						
滴 定 値	cc.	1	0.10	0.55	0.57	0.59
		2	0.095	0.55	0.57	0.59
		M.	0.0975	0.55	0.57	0.59
殘 存 量		mg.	1.07	6.05	6.27	6.49

第 三 圖

實驗開始後四時間に於ける Ascorbin 酸に對する Glutathione 並びに Thiamin に依る保護作用の相違



第五表及び第三圖の成績に依れば Ascorbin 酸に對する Glutathione 並びに Thiamin の保護作用力には明かに強弱がある. 即ち 10mg の Ascorbin 酸に對して種々の量の Glutathione

hione 又は Thiamin を作用する時此等各々の 0~10mg. を作用するならば兩者の保護作用は其の各の量に比例して Glutathione のそれが大である。けれども 10~40mg. を作用する時は保護作用の大いさの差は常に約 2mg. の Ascorbin 酸に相當し Thiamin の保護作用の強さは Glutathione のその約 75% に當り兩者の保護作用に依る Ascorbin 酸の残存量に對する曲線は殆んど並行的となる。

最近並川⁽⁴⁾氏は正常なる白鼠の臓器組織中の呼吸作用並びに解糖作用は Vitamin B₁ 及び Vitamin C の併用投與の研究結果よりして Vitamin B₁ 單獨投與の場合よりも遙かに上昇することを報告して居る。Ascorbin 酸が Glycolysis を盛ならしむる事は著者が既に第二報⁽²⁾に於いて報告したる所であつて糖代謝又は組織呼吸に關して Thiamin の役割と Ascorbin 酸のそれとは自ら異なるのであらうけれども、上記生理作用上昇の原因は Thiamin と Ascorbin 酸との併用に依りて一部分は Thiamin の糖代謝作用が Ascorbin 酸に依りて増大せられたる結果であらうが又他方に於いては本報告の結果よりして Ascorbin 酸は Thiamin に依りて確かに保護作用を受け其の爲めに Ascorbin 酸が白鼠の Glycolysis を盛ならしめたるに依るものと解釋し度いのである。

西澤氏⁽⁵⁾等は Vitamin B 缺乏飼料で白鼠を試育すれば各臓器の Vitamin C 含有量が著しく減少する事を實驗し此の事實よりして Vitamin B は白鼠の體内に於ける Vitamin C 合成機能を促進する作用を有すと結論した。Ascorbin 酸は動物體の組織並びに各臓器に廣く分布し各々の場所に於いて常に體内の酸化還元作用に關與し其の結果 Ascorbin 酸自體に於いても亦酸化還元的變移を生じ酸化型 Ascorbin 酸は少くとも Glutathione に依りて直ちに還元せられる事に就きては既に多數の研究成績があり又還元型 Ascorbin 酸が Thiamin に依りて相當永く還元型のまゝにて保たる、事も上記の實驗成績の示めす所である。而も Glutathione 並に Thiamin が動物體の組織及び各臓器中に分布する事も亦既に知られたる事實である。然る時は Ascorbin 酸は組織或は各臓器中に於いて少くとも Glutathione 及び Thiamin (其他種々の物質) に依りて還元型のまゝ保護せられて各所に於ける酸化還元作用に對し重要な生理的機能を遂行し得るものと考へられるのである。特種動物の體内に行はるゝ所の Ascorbin 酸合成機構に關しては未だ尙ほ吾々は之を闡明し得ないけれども其の合成には恐らくは Hormone 類 Vitamin 類並びに酵素類に依る總合的作用が必須であらう、Vitamin B の缺乏に依りて Ascorbin 酸の消失する事實よりして直ちに Vitamin B が Ascorbin 酸合成機能を促進する物質なりとするならば或は Vitamin B が Ascorbin 酸に對し保護作用を有する種々の物質の合成に依るのであるかも知れないことゝもなる。著者はむしろ本報告の成績よりし

て此の事實に對し少くとも一部分は Ascorbin 酸に對する Thiamin の保護作用に起因するものと解し度いのである。

C. 要 約

以上記述せる所を要約すれば

1. Ascorbin 酸に對し Thiamin を作用せしむる時は Thiamin は Glutathione と同様に Ascorbin 酸を保護し自然酸化を防止する作用を有す。而も此の作用に對して生體酵素が介在することを要せずしてその作用は極めて圓滑に進行する。
2. Ascorbin 酸に對する Thiamin の保護作用を Glutathione のそれに比較するに 10mg の Ascorbin 酸に對し 10~40mg の Thiamin を作用せしむれば其の保護作用は同一條件下に於ける Glutathione のそれに對し常に75%に當る、10mg 以下を作用せしむる時は 75%以下の強さに於いて添加量に比例して Glutathione の方が大となる。

終りに臨み本研究に就きては恩師京都帝國大學教授農學博士近藤金助先生の御懇篤なる御指導と御鞭撻とに依りて終始する事を得又本報告は先生の御校閲を煩はしたものである。茲に記して先生に對し深甚の感謝の意を明かにする所以である。

文 獻

1. 著者, 農化, 14 (1938) 1016.
2. 〃〃 〃〃 16 (1940) 649.
3. 〃〃 未發表.
4. 並川, 實驗消化, 15 (1940) 229.
5. 西澤其他, 大阪醫學會誌 38 (1939) 1691.