

製と同様に処理し、赤色粉末 0.2 g を得た。P.C. で検するとき Rf 0.59 の黄橙色スポットを示し、本品のジアセタートは帶黃白色針状晶、mp 211~215°である。

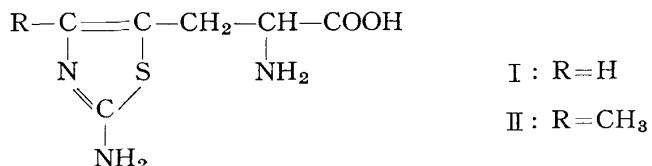
北村二朗、奥田高千代、松本 繁： β -(2-Amino-5-thiazolyl)-alanine および
 β -(2-Amino-4-methyl-5-thiazolyl)-alanine の微生物活性

Ziro Kitamura, Takachiyo Okuda and Shigeru Matsumoto:
Microbiological Activity of β -(2-Amino-5-thiazolyl)-alanine and
 β -(2-Amino-4-methyl-5-thiazolyl)-Alanine.

The inhibition of growth of *Leuconostoc mesenteroides* P-60 by β -(2-amino-5-thiazolyl)-alanine (I) and β -(2-amino-4-methyl-5-thiazolyl)-alanine (II) and its reversal by phenylalanine, tyrosine and tryptophan are reported and summarized in the Table 2. In lower concentration of (I) (0~100 γ /cc) reversal effect of these amino acids in 50 γ /cc solution are almost complete, but in higher concentration (200 γ /cc) tryptophan is most effective, followed by phenylalanine, while tyrosine is ineffective. All these amino acids are inactive at inhibitor concentration over 500 γ /cc.

フェニルアラニン (Phe) の核置換体には *o*-hydroxyphenylalanine, *m*-fluorophenylalanine, *p*-fluoro-³⁾
¹⁾⁽²⁾ phenylalanine, *p*-nitrophenylalanine, *p*-aminophenylalanine のように種々の微生物に対して Phe と拮抗する
²⁾⁴⁾ ²⁾⁵⁾ ものが知られている。また、Phe のベンゼン環を異項環で置換した β -2-thienylalanine, β -3-thienylalanine,
⁶⁾⁷⁾ ⁸⁾ β -2-furylalanine, β -3-furylalanine ⁹⁾ ¹⁰⁾ β -2-pyrrolealanine, β -2-pyridylalanine, β -4-pyridylalanine ¹¹⁾
¹²⁾ ¹²⁾ β -4-pyrazolealanine, β -4-thiazolylalanine なども微生物の増殖を抑制する。しかし、これらの抑制作用は Phe の
みでなくチロシン (Tyr) やトリプトファン (Try) などの他の芳香族アミノ酸によっても回復せられる場合が多い。

先に奥田ら¹³⁾ は β -(2-amino-5-thiazolyl)-alanine (I) と β -(2-amino-4-methyl-5-thiazolyl)-alanine¹⁴⁾ を合成した。チアゾール環を持つ構造類似体としては β -4-thiazolylalanine のほかにも β -2-thiazolylalanine が知られているが、拮抗物質としての作用については発表されていない。また β -4-thiazolylalanine の場合もアミノ酸を必須としない *Escherichia coli* に対して行われたものである。著者らは更に栄養要求の厳しい *Leuconostoc mesenteroides* に対する (I) および (II) の増殖抑制作用とアミノ酸による拮抗をしらべる目的でこの実験を行った。



実験方法

菌株 *Leuconostoc mesenteroides* P-60

保存 酵母エキス 0.5 g, ポリペプトン 1.0 g, ブドウ糖 1.0 g, 酢酸ナトリウム (3H₂O) 1.0 g, 塩A液

0.5cc (KH₂PO₄, K₂HPO₄ おのの 50mg/cc), 塩B液 0.5cc (FeSO₄ · 7H₂O, MnSO₄ · 4H₂O, NaCl おのの 1mg/cc および MgSO₄ · 7H₂O 20mg/cc), 水100cc, 精製寒天 2.0g を含む 保存培地 (pH 6.8; 15 ポンド, 15 分間滅菌) に菌を穿刺培養し (30°C, 30~24 時間), 1ヶ月ごとに移植を行い, 氷室に保存する.

基礎培地 Henderson-Snell のアミノ酸定量用基礎培地の炭素源, 窒素源, 塩基 および 塩類はそのまま使用したが, ビタミン類は必須または増殖促進ビタミンもその量を少くし, 不必要なビタミンを除いた, いわゆるビタミン制限培地を使用した. その組成は Tabel 1. に示した.

Table 1. Basal Medium (double strength 100cc, pH7.0)

Glucose	4g	Ca pantothenate	20γ	L-Proline	20mg
Na acetate	0.2g	Biotin	2γ	DL-Threonine	40mg
Na citrate	4g	PABA	10γ	L-Thyrosine	20mg
NH ₄ Cl	0.6g	DL-Alanine	200mg	DL-Valine	40mg
K ₂ HPO ₄	1.0g	DL-Aspartic acid	200mg	L-Tryptophan	20mg
Salts soln. C*	4cc	L-Glutamic acid	200mg	L-Cystin	20mg
Adenine	2mg	L-Arginine-HCl	40mg	DL-Serine	40mg
GuanineHCl	2mg	L-Lysine	40mg	*Salts soln. C	
Uracil	2mg	Glycine	20mg	MgSO ₄ · 7H ₂ O	10g
Xanthine	2mg	L-Histidine	20mg	FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.5g
Thiamin	20γ	DL-Isoleucine	40mg	NaCl	0.5g
Riboflavine	20γ	DL-Leucine	40mg	MnSO ₄ · 4H ₂ O	2g
Pyridoxal	1γ	DL-methionine	40mg	H ₂ O	250cc
Nicotinic acid	20γ	L-Phenylalanine	20mg		

接種菌液 上記保存培地から寒天を除いた液体培地 2cc を小試験管に分注し, 15 ポンド, 10 分間滅菌したものに菌を接種し, 30° で 20 時間培養し, 更に 20 時間ごとに同じ培地に 2 回植えついだ後遠心分離で集めた菌を滅菌生理食塩水 2cc で 2 回洗ってから滅菌生理食塩水 2cc に懸濁する. この液 0.5cc を滅菌生理食塩水 25cc に加え, よくふりまぜて接種菌液となる.

培養方法 基礎培地 2cc に拮抗物質, アミノ酸を所定の濃度になるように加え, 更に水を加えて全量を 4cc とした液を, 15 ポンド, 10 分間滅菌してから上記接種菌液を 1/2 皮下用注射針で 1 滴づつ接種し, 30° のふらん器中で 24 時間培養した後, 増殖度を光電比色計を用い, 波長 610mμ で濁度を測定して比較した. 対照液には未接種培地を用いる.

実験結果および考察

(I) および (II) による *Leuc. mesenteroides* P-60 に対する増殖抑制作用とアミノ酸による回復は Table 2. に示した. β -thienylalanine においては核置換基の変化が酵母の増殖抑制作用に大きく影響することが知られているが, (I) と (II) はともによく似た結果を与え, 特に著るしい差は認められなかった. 低濃度 (0~100γ/cc) における増殖抑制は 50γ/cc 以上の Phe, Tyr および Try のいずれによってもほぼ完全に回復される. しかし添加アミノ酸の低濃度では回復効果は必ずしも同一でなく, 例えは (I) 200γ/cc 存在下では Tyr の 10γ/cc 添加は殆んど無効で完全抑制されるが, 同量の Phe では対照の 1/8, また Try では 1/2 の増殖が認められる. このような傾向は他の濃度段階 (<200γ/cc) においてもほぼ併行的に観察されるが, 異項環を持つ他の拮抗体では Phe が最も強い回復能を示す場合が多いのと比べて異なる点である. また, これらアミノ酸との拮抗

Table 2. Growth Inhibition of Thiazolylalanine and Reversal Effect by
Phenylalanine, Tyrosine and Tryptophan.
Test Organism, *Leuconostoc mesenteroides* P-60

Inhibitor γ/cc	Reversing Agent γ/cc	Galvanometer Readings					
		Phe		Tyr		Try	
		I	II	I	II	I	II
0	1	14	13	7	8	7	7
20	1	6	6	4	4	6	7
50	1	2	3	1	2	4	3
100	1					1	2
200	1						
500	1						
0	5	44	44	42	42	38	38
20	5	30	30	17	19	39	37
50	5	22		6	7	22	20
100	5	15	16	2	3		
200	5	4	3			3	2
500	5						
0	10	69		61	60	70	71
20	10	68	66	46	45	61	61
50	10	64		29		58	
100	10	54	53		8	53	51
200	10	23		3	2	35	33
500	10	2	3			2	
0	50	80	82		68	74	
20	50	82	82	68	67	72	70
50	50		80				69
100	50	80		64		64	
200	50		76		58	64	64
500	50	3	3	4		6	8
0	100	82	80	69	69	72	
20	100		82	70	69		70
50	100	80	80	68	66	70	70
100	100			68		66	
200	100			66	66		65
500	100	4	3	2	2	8	8

様式は Phe の低濃度 ($<10\gamma/\text{cc}$) において 50% 抑制に必要な濃度比 (抑制指数) が 15/1 : 70/5 : 140/10 となりややせり合い的拮抗を示すが、他濃度および Try, Tyr においては非せり合い的である。更に高濃度 ($>500\gamma/\text{cc}$) においてはアミノ酸の量を増しても ($>100\gamma/\text{cc}$) 抑制作作用の回復は認められなくなる。このような現象は増殖にアミノ酸を必要としない *E. coli* を使用して行った予試験的実験¹⁵⁾においても低濃度における増殖抑制は培養時間の延長、Phe, Tyr および Try の添加によって著しく回復されるが、完全抑制濃度においては

培養時間の延長, アミノ酸の添加によっても増殖は認められなかった事実とも一致し, *Leuc. mesenteroides*においても, これらアミノ酸の利用を thiazolylalanine が非特異的に阻害するものと考えられる。

thiazole 核は imidazole 核とも isosteric であり, (I), (II) はヒスチジンとの拮抗も考えられるので同様の実験条件で調べたが, 特にその作用は認められなかった。Jones ら¹⁶⁾は 2-aminoethyl-, 4-aminoethylthiazole にもヒスタミンとの拮抗は認められないことを報告している。

この実験をすすめるにあたり御激励いただいた宮道学長に深謝する。また培地の調製にはエーザイ研究所長横山復次博士の御好意によるところが多い, 感謝の意を表する。

文 献

- 1) B. E. Volcani, S. Sicher, N. Lichtenstein: J. Biol. Chem., **192**, 543 (1951).
- 2) E. D. Bergmann, S. Sicher, B. E. Volcani: Biochem. J. (London), **54**, 1 (1953).
- 3) H. K. Mitchell, C. Niemann: J. Am. Chem. Soc., **69**, 1232 (1947).
- 4) D. E. Atkinson, S. Melvin, S. W. Fox: Arch. Biochem. Biophys., **31**, 205 (1951).
- 5) J. H. Burckhalter, V. C. Stephens: J. Am. Chem. Soc., **73**, 56 (1951).
- 6) E. Beerstecher, Jr., W. Shive: J. Biol. Chem., **167**, 49 (1947).
- 7) H. Kihara, E. E. Snell: J. Biol. Chem., **212**, 83 (1955).
- 8) K. Dittmer: J. Am. Chem. Soc., **71**, 1205 (1949).
- 9) D. A. Clark, K. Dittmer: J. Biol. Chem., **173**, 313 (1948).
- 10) W. Herz, K. Dittmer, S. J. Cristol: J. Am. Chem. Soc., **70**, 504 (1948).
- 11) D. F. Elliott, A. T. Fuller, C. R. Harrington: J. Chem. Soc., **1948**, 85.
- 12) E. M. Lansford, Jr., W. Shive: Arch. Biochem. Biophys., **38**, 347 (1952).
- 13) 奥田, 黒宮: 薬誌, **77**, 448 (1957).
- 14) R. G. Jones, E. C. Kornfeld, K. C. McLaughlin: J. Am. Chem. Soc., **72**, 4526 (1950).
- 15) 奥田, 北村: 日本薬学会東海支部例会(1957年1月)にて発表。
- 16) R. G. Jones, H. M. Lee: J. Pharmacol. Expt., **95**, 71 (1949).

伊藤一男, 花井一彦, 大野 亘, 大屋紀義: 2-ニトロフェニル酢酸類の合成研究

2-Nitro-4-methoxy-, および 2-Nitro-4-benzyloxyphenylacetic

Acid の合成. Reissert 反応の検討

Kazuo Ito, Kazuhiko Hanai, Wataru Ōno and Noriyoshi Ōya:

Studies on the Syntheses of 2-Nitrophenylacetic Acid Derivatives. Syntheses of 2-Nitro-4-methoxy-, and 2-Nitro-4-benzyloxyphenylacetic Acid. Investigations of so-called Reissert Reaction.

As the synthetic intermediates of the alkaloids of aporphine-type, 2-nitro-4-methoxy-phenylacetic acid (VII), 2-nitro-4-benzyloxyphenylacetic acid (XI) and their methyl esters (VIII), (XII) were synthesized. In order to enhance the yields of these compounds reacti-