



0.5cc ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  おおの 50mg/cc), 塩B液 0.5cc ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , NaCl おおの 1mg/cc および  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  20mg/cc), 水100cc, 精製寒天 2.0 g 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	20 $\gamma$	L-Proline	20mg
Na acetate	0.2g	Biotin	2 $\gamma$	DL-Threonine	40mg
Na citrate	4g	PABA	10 $\gamma$	L-Thyrosine	20mg
$\text{NH}_4\text{Cl}$	0.6g	DL-Alanine	200mg	DL-Valine	40mg
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	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	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	10g
Xanthine	2mg	L-Histidine	20mg	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5g
Thiamin	20 $\gamma$	DL-Isoleucine	40mg	NaCl	0.5g
Riboflavine	20 $\gamma$	DL-Leucine	40mg	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2g
Pyridoxal	1 $\gamma$	DL-methionine	40mg	$\text{H}_2\text{O}$	250cc
Nicotinic acid	20 $\gamma$	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 回植えついで後遠心分離で集めた菌を滅菌生理食塩水 2 cc で 2 回洗ってから滅菌生理食塩水 2 cc 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 2 cc 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 4 cc 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 滴ずつ接種し, 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 610m $\mu$  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.  $\beta$ -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 (0~100 $\gamma$ /cc) における増殖抑制は 50 $\gamma$ /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, 例えば (I) 200 $\gamma$ /cc 存在下では Tyr の 10 $\gamma$ /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 1/2, 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 (<200 $\gamma$ /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 $\gamma$ /cc	Reversing Agent $\gamma$ /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 ( $<10\gamma$ /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 ( $>500\gamma$ /cc) においてはアミノ酸の量を増しても ( $>100\gamma$ /cc) 抑制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<sup>15)</sup> 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 の添加によって著るしく回復されるが, 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<sup>16)</sup>らは 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. Harington: 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-methoxyphenylacetic 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-