[*Nippon Nôgeikagaku Kaishi* Vol. 57, No. 6, pp. 543~549, 1983]

モノブロムフェニルグルコシド類の放射線増感効果と それらの水溶液の放射線分解

小宮孝志, 山田哲也, 奈良省三,

川岸舜朗*, 並木満夫*

(三重大学農学部農芸化学科, * 名古屋大学農学部食品工業化学科)

昭和 57 年 12 月 15 日 受 理

Radiosensitization with Monobromophenyl- β -D-Glucosides and Their Radiolysis in Aqueous Systems

Takashi KOMIYA, Tetsuya YAMADA, Shozo NARA,
Shunro KAWAKISHI* and Mitsuo NAMIKI*

Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture,
Mie University, Tsu, Mie 514

*Department of Food Science and Technology, Nagoya University,
Chikusa-ku, Nagoya 464

Sensitization with *o*-, *m*- and *p*-bromophenyl- β -D-glucosides (BPG) was examined in *Escherichia coli* B when the bacterial suspension and the sensitizers were X-irradiated under anaerobic or aerobic conditions. The radiosensitizing lethal effect increased in the order of *o*-<*m*-<*p*-BPG under both conditions. The radiosensitization effectiveness was slightly stronger under the anaerobic than aerobic condition. To elucidate the molecular mechanism of the radiosensitizing activities, the effect of bromo-substituting position was examined on radiolysis of BPG in aqueous systems. The decomposition ratios of *o*-, *m*- and *p*-BPG corresponded to the effectiveness of the radiosensitizing lethal effects. The effects of various additives and pH were examined on the decomposition of BPG and the formation of bromide ions, phenyl- β -D-glucoside (PG) and glucose to elucidate the radiolysis pathways.

In reactions of BPG with e_{aq}^- and $\cdot H$, bromide ions and PG radicals were formed, and then PG radicals abstracted some hydrogen atoms in the glucose residue of undecomposed BPG, but the PG yield from *o*-BPG was considerably smaller than from the other two BPG because of the steric effect on hydrogen abstraction by PG radical. On the other hand, glucose formation was slightly enhanced in radiolysis of *o*-BPG.

(Received December 15, 1982)

緒 言

放射線致死作用あるいは突然変異を誘発する生物作用のメカニズムの追究は分子生物学のうえてきわめて重要である。また生物の放射線致死作用がみられる場合、共存物質により保護されたり増強されたりする⁽¹⁾。そのなかで化学物質による放射線増感効果は放射線殺菌、殺虫あるいはガン治療などの実用的な面で重要である。このような放射線増感に関する基礎研究として、*p*-nitroacetophenone 類縁化合物^(2~4)、ニトロフラン誘導体⁽⁵⁾、

di-*t*-butylnitroxide 類縁化合物⁽⁶⁾などの親電子化合物が微生物細胞に対して嫌気的条件下で放射線増感効果を与えることが知られている。著者のうち並木もまたハロゲン化合物についてアルカリハライド^(7~11)やハロゲンフェノール類^(12,13)などが放射線増感効果を与えること、さらにハロゲンフェノール類については、それらの水溶液の放射線照射後に微生物に対して致死作用を示すこと^(14,15)などを見出している。著者らは先にハロゲンフェノール類の放射線増感効果に関連して、主として*p*-ブロムフェノールを用いてその放射線分解機構を明らか

Table I. Medium for Shaking Culture

Na ₂ HPO ₄	18 g	NH ₄ Cl	1 g
KH ₂ PO ₄	1 g	Glucose	1 g
MgSO ₄ ·7 H ₂ O	0.2 g		
FeSO ₄ ·7 H ₂ O	0.005 g		
in 1 liter distilled water (pH 7.4)			

にした⁽¹⁶⁻¹⁹⁾. それに引き続いて, これらのハロゲンフェノール類の毒性を低下させ, 微生物細胞膜への透過, 移動を考慮してハロゲンフェニルグルコシドに変換し, そのうち, とくにオルト, メタおよびパラのモノブromフェニルグルコシド化合物の臭素原子の置換位置による放射線増感効果とそれらの水溶液の放射線分解反応に相違がみられたので, その結果を報告する.

実験材料および実験方法

1. *E. coli* B 懸濁液の調製 微生物は *E. coli* B を用い, Table I⁽²⁰⁾ に示す合成培地で培養後, 1/15 M リン酸緩衝液 (pH 6.0) で洗浄後, 9000 rpm で5分間遠心分離した. この洗浄操作を2回繰り返した後, リン酸緩衝液により菌濃度 10⁶~10⁷ cells/ml に調製した.

2. 各種試薬の調製 オルト, メタおよびパラブromフェニル β-D-グルコシド類(*o*-BPG, *m*-BPG および *p*-BPG と略す), パラニトロフェニル β-D-グルコシド (NPG と略す) およびフェニル β-D-グルコシド (PG と略す) を Koenigs-Knorr 法⁽²²⁾ により合成し, それぞれメタノールより再結を行って結晶を得て, さらにそれらをトリメチルシリル化を行って下記のガスクロマトグラフィーによりすべて単一であることを確認した. おのおのの薬剤溶液の調製には2回蒸留水を用いた. その他の薬品はすべて特級試薬を用いた.

3. 照射条件 *E. coli* B 懸濁液の照射の影響をみる場合は, *E. coli* B 懸濁液 (pH 6.0) と 10 mM BPG 水溶液をそれぞれ 1 ml ずつ 2 ml ガラス製アンプル管に入れて窒素ガスあるいは酸素ガスを通気し, 管を封じた後, 水冷しながら東芝 EXS-300-2 型 X 線照射装置により線量率 282 rad/min で照射した. なお線量は Fricke の鉄線量計の方法⁽²³⁾ によって測定した.

BPG 水溶液の放射線分解反応を調べる場合は, 5 mM BPG にラジカル捕捉剤を添加したものとししないものの水溶液を調製し, バイレックス製の共栓付試験管に入れ, 窒素ガスを通気して脱気した. N₂O と O₂ の効果についてはさらに 30 秒それらを通気した. 照射は名古屋大

Table II. Medium for Colony Count

Meat extract	10 g	NH ₄ Cl	5 g
Peptone	10 g	NaCl	5 g
Agar	12 g		
in 1 liter distilled water (pH 7.0)

Fig. 1. Effects of Monobromophenyl-β-D-Glucosides on Radiation Inactivation of *E. coli* B. Irradiation source, X-ray apparatus (Toshiba EXS-300-2 type), dose rate, 282 rad/min. The suspensions of *E. coli* B with or without the additives were irradiated in N₂ and in O₂ by X-ray. *k*₀ and *k* expressed the survival curve slopes for no additive and additive, respectively. ○, no additive; ●, *o*-BPG (5 mM); Δ, *m*-BPG (5 mM); ▲, *p*-BPG (5 mM).

学コバルト照射室にて Co⁶⁰ の γ 線 (4000 Ci) により線量率 4.4×10⁵ rad/hr で室温で行った.

4. 薬剤の放射線増感効果の評定 X 線照射した薬剤添加あるいは無添加の菌懸濁液を 1/15 M リン酸緩衝液 (pH 6.0) で 10 倍希釈を繰り返して行い, 希釈液 1 ml を Table II⁽²¹⁾ に示す寒天培地に移し, これを 30°C で約 18 時間培養した後 1 ml 当りのコロニー数を測定した. 未照射の菌数を *N*₀, 照射した菌数を *N*_t とし, グラフの縦軸に log *N*_t/*N*₀, 横軸に線量をとると, 生存曲線は直線となったので, 薬剤の放射線増感効果を直線の傾き *k* の大小で評定し, さらに薬剤無添加の直線の傾きを *k*₀, 薬剤添加したものを *k* とし, 薬剤自身による増感効果を *k*/*k*₀ で評定した.

5. ガスクロマトグラフィーによる放射線分解物の定量 照射した 5 mM BPG 溶液 1 ml と内部標準として 5 mM NPG 溶液 1 ml を共栓付試験管 (φ 1.5×13 cm) に入れ, 濃縮乾固した後シリル化を行った. シリル化は 0.2 ml の無水ピリジン, 0.1 ml のヘキサメチルシランおよび 0.1 ml のトリメチルクロロシランを乾燥

Fig. 2. Gas Chromatogram of TMS Ether of γ -Irradiated BPG. Column, 3% OV-17 on Gaschrom Q (0.3 $\times$ 100cm); temp, 150 $\sim$ 280 $^{\circ}$ C, programmed at 5 $^{\circ}$ C/min; carrier gas, N₂ 25 ml/min. NPG and Is (inositol) were used as the internal standards.

試料に加え、加熱して反応させた。ガスクロマトグラフィーは Yanako G-180 のガスクロマトグラフを用いて Fig. 2 に示す条件で行った。未反応の BPG および生成する PG⁽²⁴⁾ の定量は Fig. 2 に示すガスクロマトグラムのピーク面積と内部標準のピーク面積の比より行った。またグルコース (Glc と略す) の定量の場合、イノシトールを内部標準として用いた。

6. 臭素イオンの定量 BPG 水溶液の γ 線照射により生成する臭素イオンの定量をホルハルト法⁽²⁵⁾により以下のように行った。照射試料溶液 3 ml を 50 ml の三角フラスコにとり、そこへ 5 mm AgNO₃ 溶液 2 ml を加え、さらに鉄ミョウバン硝酸酸性溶液を 6 滴加えた。次にスターラーで攪拌しながら 5 mm NH₄SCN 溶液で滴定した。臭素イオン (Br⁻) の生成量は次式より求めた。

$$x \text{ mm (Br}^{-}\text{)} \times 3 \text{ ml} = 5 \text{ mm (NH}_4\text{SCN)} \times [\text{Blank} - \text{滴定値}] \times \text{Factor}$$

$$\text{Factor} = 1.023$$

結果および考察

1. BPG の放射線増感効果

Fig. 1 に示すように、*o*-, *m*-および *p*-BPG 化合物の *E. coli* B に対する X 線による致死作用をみたところ、酸素および窒素存在下においてともに菌数は線量の増加に伴ってほぼ直線的に減少した。しかも薬剤添加したものは無添加のものに比べて直線の傾きは大きく現れた。このことはこれらの BPG 化合物は *E. coli* B に対して放射線増感効果を示したと考えられる。この効果は窒素

Fig. 3. Effects of Dose on Decomposition of *p*-BPG and Formations of Br⁻, PG and Glc. Irradiation source, Co⁶⁰ γ -ray (4000 Ci); dose rate, 4.4 $\times$ 10⁵ rad/hr.

条件下よりも酸素条件下のほうが大きく、これまで知られているような酸素効果によるものである。次に臭素原子の置換位置による増感効果の大きさは酸素および窒素条件下ともに *o*-<*m*-<*p*-の順となり、これは並木らのブromフェノールの場合⁽¹²⁾と一致している。次に薬剤自身の増感効果を k/k_0 でみると、いずれの置換体も酸素条件下よりも窒素条件下のほうがそれらの値は大きく現れた。このことは緒言で述べた *p*-ニトロアセトフェノン誘導体⁽²⁻⁴⁾ や di-*t*-butylnitroxide 類縁化合物⁽⁶⁾などの親電子性化合物の放射線増感効果が嫌気条件下でみられる結果と類似している。

2. 照射線量による *p*-BPG の分解量と Br⁻, PG および Glc の生成量の変化

5 mm *p*-BPG 水溶液を窒素条件下で Co⁶⁰ の γ 線を 0 $\sim$ 5 $\times$ 10⁵ rad 照射し、*p*-BPG の分解量と Br⁻, PG および Glc 等の生成量の変化を調べた。その結果、Fig. 3 に示すように線量 3 $\times$ 10⁵ rad までは *p*-BPG の分解量、Br⁻, PG および Glc の生成量はいずれも直線的に増加し、それ以上の線量では緩慢になった。以上の結果より以後の実験での照射線量を 3 $\times$ 10⁵ rad とした。

3. BPG の分解率と Br^- , PG および Glc の生成率に対する臭素原子の置換位置効果

o-, *m*- および *p*-BPG 化合物の $G(-\text{BPG})$ 値は Table III に示すように、それぞれ 4.20, 5.21 および 6.08 と $o < m < p$ の順に大きくなった。これらの BPG 化合物の分解率の大きさは前述の Fig. 1 に示した放射線増感効果と類似した傾向がみられた。しかしながら、水の放射線分解物である $\cdot\text{OH}$, $\cdot\text{H}$ および e_{aq}^- といった活性種と BPG 化合物との反応で生ずるどのような物質が放射線増感効果に寄与しているかは明らかでない。

ここでとくに *p*-BPG の分解についてみると、 $G(-p\text{-BPG})$ 値は 6.08 で、一方、活性種は $G(e_{\text{aq}}^-)=2.7$, $G(\cdot\text{OH})=2.7$, $G(\cdot\text{H})=0.6^{(28)}$ とすると total G 値は 6.0 となり、*p*-BPG の分解 G 値と一致している。このことからいずれの活性種も *p*-BPG の分解に関与しているものと考えられる。

次に Br^- の生成率をみると、いずれの BPG 化合物の臭素置換体も $G(\text{Br}^-)$ 値はほぼ 3.0 であり、臭素原子の置換位置による効果はみられなかった。PG の生成率 $G(\text{PG})$ 値は $p > m > o$ の順で、オルト置換体の値は他の 2 つに比べて著しく小さかった。このように Br^- の生成については BPG 分子の C-Br 結合の臭素原子に e_{aq}^- が付着し、続いてこの付着エネルギーが解離エネルギーとなってこの結合が開裂されるので⁽²⁷⁾、この場合の反応は立体障害を受けないと考えられる。しかし、C-Br 結合の開裂に続いて生成する PG ラジカルがある物質から水素原子を引き抜いて PG を生成する⁽²⁴⁾ 際にはオルト効果の立体障害を受けると考えられる。

Glc の生成率については Table III に示すように、*p*-, *m*- および *o*-BPG 化合物では $G(\text{Glc})$ 値はそれぞれ 0.43, 0.68 および 0.71 となり、これらの値は Phillips らによる phenylglucoside 水溶液の放射線分解での $G(\text{Glc})$ 値 0.6⁽²⁸⁾ とほぼ一致している。このように BPG 化合物の臭素原子の置換位置による $G(\text{Glc})$ 値に対する効果は BPG の分解率や PG の生成率とは逆に $o > m > p$ の順となった。

4. BPG の分解率と Br^- , PG および Glc の生成率に対するラジカル捕捉剤の添加効果

前述のように、BPG 水溶液の放射線分解における BPG の分解率と Br^- , PG および Glc の生成率を明らかにした。これらの物質の分解および生成は水の放射線分解物である e_{aq}^- , $\cdot\text{OH}$ および $\cdot\text{H}$ などの活性種が

Table III. Effects of Various Additives on the Radiolysis of *o*-, *m*- and *p*-BPG Compounds in Aqueous Systems

Additives	<i>p</i> -BPG			<i>m</i> -BPG			<i>o</i> -BPG			
	$G(-BPG)$	$G(PG)$	$G(Br^-)$	$G(-BPG)$	$G(PG)$	$G(Br^-)$	$G(-BPG)$	$G(PG)$	$G(Br^-)$	$G(Glc)$
No additive	6.08	1.09	3.00	5.21	0.67	2.96	4.20	0.09	3.00	0.71
<i>t</i> -BuOH	5.45	1.48	—	3.49	1.43	—	3.49	0.18	—	—
KSCN	5.70	1.12	—	4.62	0.75	—	4.13	0.09	—	0.13
Isopropanol	4.52	2.01	2.52	3.16	2.24	2.24	2.59	1.54	2.46	0.05
N ₂ O	5.85	0.22	1.45	4.18	0.59	1.49	4.15	0.08	1.49	0.63
O ₂	5.83	0.13	3.81	5.29	0.09	3.81	4.18	0.08	3.81	2.91
pH 2	3.71	0.43	1.76	2.95	0.67	1.81	3.71	0.09	1.81	0.51

BPG に作用して行われていると考える。その際いずれの活性種が関与したかを *p*-BPG の放射線分解を中心にラジカル捕捉剤の添加効果より以下のように推論した。

(1) BPG 分解について Table III に示すように、ラジカル捕捉剤無添加の $G(-p\text{-BPG})$ 値は 6.08 であるのに対して $\cdot\text{OH}$ 捕捉剤である KSCN, *t*-butanol (*t*-BuOH と略す) および isopropanol 等の添加により $G(-p\text{-BPG})$ 値は無添加に比べてそれぞれ 0.38, 0.63 および 1.56 だけ減少した。これらの結果, isopropanol は $\cdot\text{OH}$ と $\cdot\text{H}$ の捕捉剤であるので、他の捕捉剤に比べてその効果は大きくなっているが、*p*-BPG の分解に対する寄与は $G(\cdot\text{OH})=2.7$ から考えるとそれらの捕捉効果はかなり小さいといえる。次に e_{aq}^- の寄与を N_2O , O_2 および pH 2 等による捕捉効果を調べた結果, N_2O および O_2 の捕捉効果はそれぞれ 0.23 および 0.25 できわめて小さい。これは (1), (2) 式に示すように、 $\cdot\text{OH}$ や $\cdot\text{O}_2^-$ といった活性種が 2 次的に生成することにより反応系が酸化型に変化し、*p*-BPG に対してそれらの活性種がほぼ化学量論的に反応したものと考えられる。

pH 2 では e_{aq}^- は (3) 式により捕捉され、その効果は 2.37 と大きく、 $G(e_{aq}^-)=2.7$ に近い値を示した。

以上の結果から BPG の分解には e_{aq}^- が他の 2 つの活性種に比べて優先的に作用しているものと考えられる。

(2) Br^- 生成について Br^- 生成における活性種の寄与を以下のように調べた。Table III に示すように、isopropanol の添加により $G(\text{Br}^-)$ 値は無添加の場合より 0.48 減少し、 Br^- 生成はわずかに抑制された。 N_2O および pH 2 での捕捉効果はそれぞれ 1.55 および 1.24 であり、かなり高い効果を示した。酸素の効果では $G(\text{Br}^-)$ 値は無酸素より比較的大きく、この結果は大部分 (2) 式により 2 次的に生成した $\cdot\text{O}_2^-$ の寄与によるものと考えられる。

以上の結果より Br^- 生成は e_{aq}^- が BPG の C-Br 結合を優先的に攻撃して開裂するものと考えられる。また $\cdot\text{H}$ もその開裂に関与しているものと考えられる。

(3) PG 生成について PG の生成に対するラジカル捕捉剤の添加効果をみると、Table III に示すよう

に $\cdot\text{OH}$ 捕捉剤で水素原子をもたない KSCN の添加によりその捕捉効果は 0.03 ときわめて小さい。 N_2O , O_2 および pH 2 における e_{aq}^- 捕捉効果はそれぞれ 0.87, 0.96 および 0.66 で、これらの添加により PG 生成は大きく抑制された。

次に isopropanol および *t*-BuOH の添加により $G(\text{PG})$ 値はそれぞれ無添加の場合よりも 0.92 および 0.39 増加した。とくに *o*-BPG では $G(\text{PG})$ 値は 0.09 とほかの 2 つの置換体 に比べて著しく小さいが、とくに isopropanol の添加により 1.54 となり大きく増加した。これは 3. で述べた *o*-BPG と e_{aq}^- の反応からの PG ラジカルが溶液中に多量に存在する isopropanol の 3 級水素原子を優先的に引き抜いて PG を生成したものと考えられる。

以上の結果、BPG の C-Br 結合が e_{aq}^- により開裂され、PG ラジカルを生成する。一方、BPG の $\cdot\text{OH}$ による寄与は e_{aq}^- に比べて著しく小さいことと、また $G(-p\text{-BPG})=6.08$ が e_{aq}^- と $\cdot\text{H}$ だけで寄与では説明できないことから、PG ラジカルが未反応の BPG 分子の糖残基の水素原子を引き抜くことによって BPG の分解に寄与しているものと考えられる。

(4) Glc 生成について Glc 生成に対するラジカル捕捉剤添加効果をみると、Table III に示すように、KSCN および isopropanol の添加により $G(\text{Glc})$ 値は 0.43 からそれぞれ 0.09 および 0.02 と大きく減少し、きわめて高い捕捉効果が示された。次に N_2O 添加および pH 2 では $G(\text{Glc})$ 値はいずれもわずかに増加したにすぎない。また O_2 存在では $G(\text{Glc})$ 値は 2.82 と著

Fig. 4. Decomposition Pathways of *o*-, *m*- and *p*-BPG Compounds in Aqueous Systems by γ -Irradiation.

しく増加した。以上の結果より、グルコシド結合の開裂は Phillips らの *p*-nitrophenyl- β -D-glucoside 水溶液の放射線分解でみられるように⁽²⁹⁾、 $\cdot\text{OH}$ がグルコース残基の1位の炭素に結合した水素原子を引き抜いて生ずる糖ラジカルを経由して行われるものと考えられる。また O_2 の場合は、川岸らが β -cyclodextrin のグルコシド結合開裂について報告しているように⁽³⁰⁾、上述の糖ラジカルに O_2 が反応し、パーオキシラジカルを経由してグルコシド結合の開裂がなされるものと考えられる。

要 旨

放射線照射により *o*-, *m*- および *p*-BPG 化合物が微生物細胞 *E. coli* B に対する致死作用を増強し、それらの化合物の増感効果は臭素原子の置換位置によって異なり、その強さは *o*-<*m*-<*p*- の順であった。また薬剤自身の効果を生存曲線での薬剤無添加の場合の傾きを k_0 、薬剤添加の場合の傾きを k とし、 k/k_0 で表すと、酸素条件下よりも窒素条件下のほうがその値は大きく現れた。

このような *o*-, *m*- および *p*-BPG 化合物の放射線増感効果に関連して、これらの化合物の水溶液における放射線分解過程を水の放射線分解物である e_{aq}^- 、 $\cdot\text{OH}$ 、 $\cdot\text{H}$ のラジカル捕捉剤添加効果より明らかにした。その結果、臭素原子の置換位置による BPG の分解率の大きさは放射線増感効果と相応した。Fig. 4 に示すように、BPG 水溶液の放射線分解の主な反応として e_{aq}^- と $\cdot\text{H}$ が BPG の C-Br 結合を開裂し、PG ラジカルと Br^- を生成した。 $G(\text{Br}^-)$ 値は3.0で臭素原子の置換位置により変化しなかった。続いて PG ラジカルは未反応の BPG の糖残基より水素原子を引き抜いて PG を生成したと考えられる。この際、*o*-BPG の $G(\text{PG})$ 値は他の2つに比べて著しく小さく、これは PG ラジカルの水素引き抜き反応で立体障害を受けたものと考えられる。その他少量の反応として $\cdot\text{OH}$ による BPG のグルコシド結合の開裂に伴うグルコースの生成がみられ、 $G(\text{Glc})$ 値の大きさは BPG の臭素原子の置換位置により異なり、*o*->*m*->*p*- の順で $G(-\text{BPG})$ 値および $G(\text{PG})$ 値とは逆の結果となった。

- (1) 本城市次郎, 崔 英哲:「基礎放射線生物学」, 南江堂, 東京, 1966, p.129, 149.
- (2) G. E. Adams, J. C. Asquith, D. L. Dewey, J. L. Foster, B. D. Michael and R. L. Wilson: *Int. J. Radiat. Biol.*, **19**, 575 (1971).

- (3) J. D. Chapman, J. G. Webb and J. Borsa: *Int. J. Radiat. Biol.*, **19**, 561 (1971).
- (4) G. E. Adams, J. C. Asquith, M. E. Watts and C. E. Smithen: *Nature, New Biol.*, **239**, 23 (1972).
- (5) A. P. Reuvers, J. D. Chapman and J. Borsa: *Nature*, **237**, 403 (1972).
- (6) P. T. Emmerson and P. Howard-Flanders: *Nature*, **204**, 1005 (1964).
- (7) Y. Okazawa, M. Namiki, S. Yamashita and A. Matsuyama: *Agric. Biol. Chem.*, **24**, 235 (1960).
- (8) Y. Okazawa, M. Namiki and A. Matsuyama: *Agric. Biol. Chem.*, **24**, 435 (1960).
- (9) A. Matsuyama, Y. Okazawa and M. Namiki: *J. Jpn. Radiat. Res. Soc.*, **1-2**, 98 (1960).
- (10) M. Namiki, Y. Okazawa and A. Matsuyama: *Agric. Biol. Chem.*, **25**, 108 (1961).
- (11) M. Namiki, Y. Okazawa and A. Matsuyama: *Agric. Biol. Chem.*, **25**, 115 (1961).
- (12) A. Matsuyama, M. Namiki, Y. Okazawa and I. Kaneko: *Agric. Biol. Chem.*, **27**, 349 (1963).
- (13) M. Namiki, A. Matsuyama, Y. Okazawa and I. Kaneko: *Agric. Biol. Chem.*, **27**, 358 (1963).
- (14) M. Namiki and A. Matsuyama: *Agric. Biol. Chem.*, **29**, 525 (1965).
- (15) M. Namiki and A. Matsuyama: *Agric. Biol. Chem.*, **29**, 533 (1965).
- (16) T. Komiya, S. Kawakishi, H. Aoki and M. Namiki: *Agric. Biol. Chem.*, **34**, 349 (1970).
- (17) M. Namiki, T. Komiya, S. Kawakishi and H. Aoki: *Chem. Commun.*, **1970**, 311 (1970).
- (18) T. Komiya, S. Kawakishi, H. Aoki and M. Namiki: *Agric. Biol. Chem.*, **35**, 1558 (1971).
- (19) T. Komiya, S. Kawakishi and M. Namiki: *Agric. Biol. Chem.*, **38**, 1589 (1974).
- (20) 微生物研究法懇談会編:「微生物学実験法」, 講談社, 東京, 1977, p. 434.
- (21) M. Namiki, Y. Watanabe, J. Okumura and S. Kawakishi: *Agric. Biol. Chem.*, **37**, 990 (1973).
- (22) W. Koenigs and E. Knorr: *Ber.*, **34**, 957 (1901).
- (23) 日本放射線同位元素協会編:「アイソトープ便覧」, 丸善, 東京, 1962, p. 567.
- (24) T. Komiya, T. Yamada, S. Nara and M. Namiki: *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 1789 (1977).
- (25) 高木誠司:「定量分析の実験と計算」, 第2巻, 共立出版, 東京, 1960, p. 222.
- (26) S. Patai: "The Chemistry of Peroxides," Chapter 24, ed. by Y. Ogata, K. Tomizawa and K. Furuta, John Wiley & Sons, New

- York, in press.
- (27) E. J. Hart and M. Anbar : "The Hydrated Electron," John Wiley & Sons, New York, 1970, p. 80, 112, 139.
- (28) G. O. Phillips, W. G. Filby and J. S. Moore : *Carbohydr. Res.*, **16**, 89 (1971).
- (29) K. Kemsley, J. S. Moore and G. O. Phillips : *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1638 (1975).
- (30) 川岸舜朗, 加藤育代, 並木満夫 : 日本農芸化学会中部関西支部合同大会講演要旨集, 1977, p. 9.
-