Summary

Evidence that *o*-aminophenol is conjugated with sulfuric acid *in vivo* was presented by the successful isolation of potassium *o*-aminophenylsulfate as colorless plates, m.p. 225°, from the urine of tuberculosis patients receiving *o*-aminophenol by oral administration.

(Received June 28, 1954)

294. 鈴木友二, 西村千昭, 小延鑑一: フェノール類の大腸菌に対する呼吸阻止作用

Tomoji Suzuki, Chiaki Nisimura, and Kan-ichi Konobu: Effect of Phenols on the Respiration of *Escherichia coli*.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Kyoto*)

培地の水素イオン濃度がフェノール類の細菌増殖抑制作用に影響することに関しては最近 Simon, Blackmann¹⁾ の報告がある。氏らは *Trichomonas viride* を用いて実験を行いフェノール類は培地の pH 値が薬物の pK 値以上になると増殖抑制作用が著しく減ずることを認めている。又薬物の細菌に対する呼吸阻止作用と水素イオン濃度との関係については Simon, Beevers²⁾ らの NaN_3 , $\text{ICH}_2\text{-COOH}$ を用いた研究がある。著者らは菌体浮遊液の水素イオン濃度を变化させつつ、コハク酸を基質とした場合のフェノール類の呼吸阻止作用を測定した。その結果フェノール (Pol.), パラニトロフェノール (P. N. P.), オルトニトロフェノール (O. N. P.), レゾルシン (Rol.) のいずれにおいても pK 値を境として、アルカリ側では呼吸阻止作用は著明に低下することを認めた。従つて pH の影響は休止菌においても充分あらわれ、かつフェノール類においても未解離状態にある分子が特に著しい呼吸阻止作用を示し、解離型が増加するにつれて阻止作用は減少する (Fig. 1a)。又フェノール類はいずれも低濃度においては呼吸促進作用を示すことが知られているが、この場合未解離型の少い状態即ち培地の pH 値を薬物の pK 値より大きい値にしても同じく呼吸促進作用がみられた。又呼吸阻止作用はいずれも同じ型

Fig. 1a. Effect of pH on the Respiratory Inhibition of *E. coli* (Substrate: Succinic acid)

Fig. 1b. Effect of Phenols on the Cell-free Succino-oxidase

Fig. 2. Comparative Effect of Phenol on the Enzyme with and without Cell

* Yoshida, Konoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto.

1) Simon, Blackmann: Symp. Soc. Exptl. Biol. 3, 253 (1949).

2) Simon, Beevers: Science 114, 124 (1951); Nature 163, 408 (1949).

式をとるが (Fig. 1a), この事実からも呼吸阻止作用があらわれるためには未解離性水酸基が必要であるものと考えられる. 次に著者らは菌体から抽出したコハク酸酸化系を用いて実験を行つた. 即ち上に使用したと同一菌体を超音波で破壊してコハク酸酸化系のみを分離抽出し, この系を用いてフェノール類の作用を観察した. このとき培地中のフェノール類の濃度を菌浮遊液の場合と同じにしたときも呼吸に対する影響は殆んどみられない (Fig. 1b). 即ち生菌浮遊液とコハク酸抽出酵素系の場合を比較すると Fig. 2 の如くなり, フェノール類は菌が細胞構造を保有しているときに特に著しい呼吸阻止作用を示す. そして菌の呼吸が阻止されるに十分な濃度のフェノール類によつても菌体内のコハク酸々化酵素系は影響を受けていないことを知つた.

次に著者らはブドウ糖を基質として休止菌の好氣的並びに嫌氣的解糖作用に及ぼすフェノール類の影響をしらべ, コハク酸を基質とした場合と比較した. コハク酸々化作用が抑制されている薬物濃度でも好氣的並びに嫌氣的解糖作用は殆んど影響を受けていない (Table I). 即ちフェノールの存在下においてもブドウ糖は菌体内に透過して行くのに, コハク酸は透過して行かない. このように基質の透過能の影響され方が異なるのはこれら基質の荷電の状態の相異に基くものであろう.

Table I. コハク酸酸化作用と解糖作用の比較

薬物濃度		阻 害 度 (%)		
		コハク酸酸化	嫌気の解糖	好気の解糖
フ エ ノ ー ル	2×10 ⁻² M	79	0	20
パ ラ ニ ト ロ フ エ ノ ー ル	10 ⁻³ ×10 ⁻² g	92	0	0
オ ル ト ニ ト ロ フ エ ノ ー ル	2×10 ⁻² g	84	0	0
レ ゾ ル シ ン	2×10 ⁻² g	96	46	30

本研究に当り種々御教示を戴いた武田薬工研究所鈴置二郎氏に謝意を表する.

実 験 の 部

フェノール類と基質と共存させた場合の酸素吸収をワールブルヒ検圧計を用いて測定し, これと正常菌体の呼吸との比較値 (阻害度) を算出した.

1) 菌体浮遊液の調製 *Escherichia coli* strain S をブイヨン寒天に 24 時間培養し, 集菌後蒸留水で洗滌し, 遠心分離して上清を除き, この操作を数回繰返して菌体を蒸留水に懸濁し菌体乾燥量を 7~10 mg/cc とした.

2) コハク酸酸化作用の測定 菌浮遊液 0.5 cc, 緩衝液 1.0 cc, 薬物 (M/10 Pol., M/10 Rol., M/50 O.N.P., M/100 P.N.P.) 0.3 cc を主室に加え, 側室にはコハク酸 10 μM を加える. 発生する炭酸ガスは 15%水酸化カリウム液に吸収させた. 容器内の終末容積は 2.0 cc である. 又上記の条件において薬物を含む液の代りに蒸留水 0.3 cc を用いた場合についても同時に測定し対照とした.

3) 好氣的解糖作用の測定 基質にはブドウ糖 10 μM を用いた. その他の条件は 2) と同じである.

4) 嫌氣的解糖作用の測定 主室には菌浮遊液 0.3 cc, 重曹緩衝液 (pH 7.2) 1.0 cc, 薬物 0.3 cc (2 と同じ濃度) を加え, 蒸留水で終末容積 2.0 cc とした. 側室にはブドウ糖 10 μM を加えた. 又気相は N₂ 95%と CO₂ 5%の混合相とした. 酸生成によつて生ずる CO₂ を測定する.

5) コハク酸酸化系の分離 560 Kc, 1800 V, 0.30 A において 15 分間超音波に曝射後遠沈すれば, コハク酸酸化活性の殆んどを上澄液に求めることができた³⁾. 上澄液は淡黄色半透明である. この抽出液にはリンゴ酸, フマル酸, オキサロ酢酸, 焦性ブドウ酸などの酸化系はみとめられず, 又この抽出液を用いてコハク酸 10 μM を完全酸化されれば 100.0 μL (理論値 112.0 μL) の酸素吸収を示す.

京都大学医学部薬学科

Summary

Effect of phenol, *p*- and *o*-nitrophenols, and resorcinol on glycolysis and succinic acid dehydrogenation of the live bacterial suspension of *Escherichia coli* strain S was examined and following results were obtained.

1) Only the non-dissociating type of phenols inhibited respiration of the bacteria.

3) 超音波処理が菌に及ぼす影響に関しては, 電子顕微鏡による観測結果を加えて別に詳しく報告する予定.

2) At the concentration that inhibits succinic acid dehydrogenation of live bacterial suspension, the phenols do not affect the aerobic or anaerobic glycolysis.

3) The succinic acid dehydrogenase obtained from the cell-free extract of *E. coli* by decomposition with supersonic waves seemed to be less affected by these chemicals than the live bacterial suspension.

(Received June 28, 1954)

295. 藤澤俊郎: *Py*-Tetrahydroisoquinoline 誘導体の合成 (1) 2 位に
置換基を有する *Py*-Tetrahydroisoquinoline 誘導体の合成*

Toshiro Fujisawa: Synthesis of *Py*-Tetrahydroisoquinoline Derivatives. (1).
Synthesis of *Py*-Tetrahydroisoquinolin Derivatives
Possessing Substituent in 2-Position.

(Research Laboratories of Institute of Pharmaceutical Resources**)

先きに菅沢教授及び著者は医薬品原料としてのサフロールの利用研究 (第8報) その1としてサフロールから2工程で誘導される 2,3-methylenedioxy-5-(β -bromopropyl)-6-bromomethylbenzene (I) に先ずアニリンを反応せしめ、生じたものが 2-phenyl-3-methyl-6,7-methylenedioxy-*Py*-tetrahydroisoquinoline なることを証明した。

一方 Clemo 等²⁾ は eugenol より誘導される 2-hydroxy-3-methoxy-5-(β -bromopropyl)-6-chloromethylbenzene と芳香族1級アミンと縮合して2位に置換基を有する *Py*-tetrahydroisoquinoline 類を得たことを報告している。

今回は (I) にメチルアミン, *p*-nitroaniline, ethyl *p*-aminobenzoate, 2-aminothiazole 等を反応せしめ、上記 aniline の場合と同様に2位に置換基を有する *Py*-tetrahydroisoquinoline 誘導体を得た。

前報の aniline の場合は溶剤として benzene を用い、(I) 1 mol に対し aniline 3 mol を用いて反応せしめた。今回は methylamine の場合は aniline と同じく 3 mol を用いて溶媒は無水トルオールを使用した。ethyl *p*-aminobenzoate の場合は同じく 3 mol 用い、溶媒も無水ベンゾールを使用した。*p*-nitroaniline の場合は縮合溶媒は無水 pyridine を用い 1:1 mol 比で反応させ 1:3 mol 比でも行つたが得られたものは同一であつた。2-aminothiazole の場合は aniline と同様にして得られた。

* 医薬品原料としてのサフロールの利用研究 (第9報) その1; Studies on the Utilization of Safrole as medical Raw Material (IX-1).

** Nukui, Koganei-machi, Kitatama-gun, Tokyo.

1) Pharm. Bull. (Japan) 1, 80 (1953).

2) Clemo, Jempe: J. Chem. Sec. 1953, 678