UDC 547.586.2 : 577.152

154. 亀田幸雄, 豊浦悦子, 木村行男, 松井勝彦, 川崎直司: 微生物における
アシラーゼ能の研究 (第 2 報)

threo- 及び *erythro*- β -Phenylserine 並びに *threo*- 及び *erythro*- β -*p*-Nitrophenylserine の
D 型及び L 型の N-Dichloroacetyl 及び N-Benzoyl 誘導体の酵素的加水*

Yukio Kameda, Etsuko Toyoura, Yukio Kimura, Katsuhiko Matsui, and Tadashi
Kawasaki: Studies on the Acylase Activities and Microorganisms. II.
Enzymatic Hydrolysis of N-Dichloroacetyl and N-Benzoyl Derivatives
of D- and L-Forms of *threo*- and *erythro*- β -Phenylserines,
and of *threo*- and *erythro*- β -*p*-Nitrophenylserines.

(Laboratory of Antibiotics, Faculty of Pharmacy, Kanazawa University)

The acetone-dried powder and bacterial suspension of the soil bacteria KT 84 (*Pseudomonas* sp.) did not hydrolyze the N-benzoyl derivative of *threo*- β -phenyl-DL-serine but did effect asymmetric hydrolysis of its N-dichloroacetyl derivatives to produce *threo*- β -phenyl-L-serine (II) and N-dichloroacetyl-*threo*- β -phenyl-D-serine (III). The N-dichloroacetyl and N-benzoyl derivatives of *erythro*- β -phenyl-DL-serine were asymmetrically hydrolyzed by KT 84 and respectively formed N-dichloroacetyl- (VI) and N-benzoyl-*erythro*- β -phenyl-D-serine, besides *erythro*- β -phenyl-L-serine (V).

The acetone-dried powder and bacterial suspension of KT 83 hydrolyzed (III) and (VI), respectively forming *threo*- and *erythro*- β -phenyl-D-serines, and also hydrolyzed N-dichloroacetyl-*threo*- and -*erythro*- β -phenyl-L-serines.

Both KT 84 and 83 hydrolyzed the *erythro*-type of N-dichloroacetyl- β -phenylserine more easily than its *threo* type. The dichloroacetyl derivatives of β -phenylserine were prepared by the chloral hydrate method.

The acetone-dried powder and bacterial suspension of KT 84 effected asymmetric hydrolysis of N-dichloroacetyl-*threo*- (XIII) and -*erythro*- β -*p*-nitrophenyl-DL-serine (XVI) to form, respectively, *threo*- β -*p*-nitrophenyl-L-serine (XIV) and N-dichloroacetyl-*threo*- β -*p*-nitrophenyl-D-serine (XV), and *erythro*- β -*p*-nitrophenyl-L-serine (XVII) and N-dichloroacetyl-*erythro*- β -*p*-nitrophenyl-D-serine (XVIII).

The acetone-dried powder of KT 83 hydrolyzed (XV) and (XVIII) to respectively form *threo*- (XIX) and *erythro*- β -*p*-nitrophenyl-D-serine (XX), and also hydrolyzed N-dichloroacetyl-*threo*- and -*erythro*- β -*p*-nitrophenyl-L-serines.

(Received January 22, 1958)

クロラムフェニコールの構造が 1-*p*-nitrophenyl-2-dichloroacetamido-1,3-propanediol であると決定されてから β -phenylserine 及び β -*p*-nitrophenylserine は興味あるアミノ酸として人々の注目を浴びるようになった。 β -phenylserine 及び β -*p*-nitrophenylserine は 2 個の不斉炭素を有し, *threo* 及び *erythro* の異性体が存在する。

threo- β -phenylserine は最初 Erlenmeyer 及び Früstück により合成されり, その立体配位は数人の研究者等により確定され²⁻⁴⁾, *erythro*- β -phenylserine は 3 種の異つた方法によつて合成されている⁵⁻⁷⁾。また *threo*- β -*p*-nitrophenylserine 及び *erythro*- β -*p*-nitrophenylserine の合成はそれぞれ Ehrhart⁸⁾ 及び Bergmann⁹⁾ 等によりなされている。

酵素によるこれらアミノ酸の光学的分割に関して, Fones¹⁰⁾ は結晶 carboxypeptidase が *threo*- 及び *erythro*-

* 日本薬学会例会発表 (1954 年 11 月)。

- 1) E. Erlenmeyer, E. Früstück: Ann. **284**, 41(1894).
- 2) G. Carrara, G. Weitnauer: Gazz. chim. ital. **79**, 856(1949).
- 3) K. Vögler: Helv. Chim. Acta **33**, 2111(1950).
- 4) W.S. Fones: Arch. Biochem. Biophys. **36**, 486(1952).
- 5) K.N.F. Shaw, S.W. Fox: J. Am. Chem. Soc. **75**, 3417(1953).
- 6) I. Elphimoff-Felkin, H. Felkin: Compt. rend. **232**, 241(1951).
- 7) W.A. Bolhofer: J. Am. Chem. Soc. **74**, 5459(1952).
- 8) G. Ehrhart: Chem. Ber. **86**, 483(1953).
- 9) E.D. Bergmann, H. Bendas, W. Taub: J. Chem. Soc. **1951**, 2673.
- 10) W.S. Fones: J. Biol. Chem. **204**, 323(1953).

β -phenylserine の N-trifluoroacetyl 誘導体を不斉水解することを見出し, このことを利用して β -phenylserine の 4 種の光学的異性体を得ている. しかし *threo*- 及び *erythro*- β -p-nitrophenylserine の酵素による光学的分割に関する報告は見当たらない.

さきに著者等は土壌細菌 KT 84 (*Pseudomonas* sp.)^{11,12)} がフェニルアラニン, チロジン, アラニン, アミノ酪酸, *p*-methoxyphenylalanine, 3,4-methylenedioxypheylalanine の N-benzoyl 誘導体の L 型のみを水解し, 他方土壌細菌 KT 83 (*Pseudomonas* sp.)^{11,12)} が上記 6 種の N-benzoyl-アミノ酸の L 型のみならず D 型をも水解することを報告した¹³⁾. 今回はまず KT 84 のアセトンパウダー及び菌体浮遊液を用いて *threo*- β -phenylserine の N-benzoyl 誘導体の不斉水解を試みたが水解作用はほとんど認められず原料を回収するにとどまつた. そこでクロラムフェニコールが dichloroacetyl 基を有することに着想を得て *threo*- β -phenylserine の N-dichloroacetyl 誘導体 (I) について実験を行つたところ目的を達することが出来た. 即ち (I) の 0.05 M 溶液に KT 84 アセトンパウダーを pH 7.2, 37° に 6 日間作用させて収量よく *threo*- β -phenyl-L-serine (II) mp 199~201°, $[\alpha]_D^{20}$: -31.5° 及び N-dichloroacetyl-*threo*- β -phenyl-D-serine (III) mp 161~162°, $[\alpha]_D^{20}$: -16.5° を得た. しかし *erythro*- β -phenylserine についての実験ではその N-benzoyl 誘導体 (VII) 及び N-dichloroacetyl 誘導体 (IV) が KT 84 アセトンパウダーにより容易に水解されて *erythro*- β -phenyl-L-serine (V) mp 184~185°, $[\alpha]_D^{20}$: +78° の他にそれぞれ N-benzoyl-*erythro*- β -phenyl-D-serine (VIII) mp 178~180°(decomp), $[\alpha]_D^{20}$: -22° 及び N-dichloroacetyl-*erythro*- β -phenyl-D-serine (VI) mp 74~75°, $[\alpha]_D^{20}$: -38.5° を収量よく得ることが出来た. ここに得られた (III) 及び (VI) はいずれも KT 84 アセトンパウダーによつては全く水解されなかつたが, KT 83 アセトンパウダーによつて容易に水解されそれぞれ *threo*- β -phenyl-D-serine (IX) mp 199~201°, $[\alpha]_D^{20}$: +32° 及び *erythro*- β -phenyl-D-serine (X) mp 184~185°, $[\alpha]_D^{20}$: -79° が得られた. また KT 83 アセトンパウダーは N-dichloroacetyl-*threo*- β -phenyl-L-serine (XI) 及び N-dichloroacetyl-*erythro*- β -phenyl-L-serine (XII) をも酵素的に水解した. KT 84 及び KT 83 は β -phenylserine の *threo* 型の N-dichloroacetyl 誘導体よりも *erythro* 型の N-dichloroacetyl 誘導体をより容易に水解した. 因みに Fones¹⁰⁾ によれば結晶 carboxypeptidase は N-trifluoroacetyl-*erythro*- β -phenyl-L-serine よりも N-trifluoroacetyl-*threo*- β -phenyl-L-serine をより容易に水解することが報告されている.

次に *threo* 及び *erythro*- β -p-nitrophenylserine の N-dichloroacetyl 誘導体に対する KT 84 及び KT 83 の水解実験の結果を述べる. 著者等はまず N-dichloroacetyl-*threo*- β -p-nitrophenyl-DL-serine (XIII) の 0.05 M 水溶液に KT 84 のアセトンパウダーを pH 7.2, 37° に 10 日間作用させて *threo*- β -p-nitrophenyl-L-serine (XIV) mp 209°(decomp), $[\alpha]_D^{20}$: -40° 及び N-dichloroacetyl-*threo*- β -p-nitrophenyl-D-serine (XV) mp 168°(decomp), $[\alpha]_D^{20}$: -25° を得た. この際得量が非常に悪かつたので菌体浮遊液を用いて得量を幾分上げることが出来た. また N-dichloroacetyl-*erythro*- β -p-nitrophenyl-DL-serine (XVI) は KT 84 アセトンパウダーによつて容易に水解され *erythro*- β -p-nitrophenyl-L-serine (XVII) mp 209°(decomp), $[\alpha]_D^{20}$: +107° と N-dichloroacetyl-*erythro*- β -p-nitrophenyl-D-serine (XVIII) mp 188~189°(decomp), $[\alpha]_D^{20}$: -48° が収量良く得られた. このように KT 84 は N-dichloroacetyl- β -p-nitrophenyl-L-serine の *erythro* 型を *threo* 型よりも容易に水解する. ここに得られた (XV) 及び (XVIII) はいずれも KT 84 アセトンパウダーによつては全く水解されなかつたが, KT 83 アセトンパウダーによつて容易に水解されそれぞれ *threo*- β -p-nitrophenyl-D-serine (XIX) mp 209°(decomp), $[\alpha]_D^{20}$: +40° 及び *erythro*- β -p-nitrophenyl-D-serine (XX) mp 209°(decomp), $[\alpha]_D^{20}$: -107° が得られた. また KT 83 アセトンパウダーは N-dichloroacetyl-*threo*- β -p-nitrophenyl-L-serine (XXI) 及び N-dichloroacetyl-*erythro*- β -p-nitrophenyl-L-serine (XXII) をも酵素的に水解した.

著者等はさきに 1-p-nitrophenyl-2-amino-1,3-propanediol, フェニルアラニン, *threo*- β -phenylserine ethyl ester の如きアミノ基を有する化合物に抱水クロラルを縮合させ, これに KCN, CaCO₃ を加えて加温し, そのアミノ基を dichloroacetyl 化することに成功した¹⁴⁾. このたびもこの方法を適用して (I) 及び (IV) を合成し, また光学的活性体である (II) 及び (V) についても本法を試みたがラセミ化が起らず, それぞれ (XI) 及び

11) Y. Kameda, E. Toyoura: 本誌 72, 791(1952).

12) 亀田, 豊浦, 木村, 松井, 堀田: 本誌 78, 748(1958).

13) Y. Kameda, E. Toyoura, H. Yamazoe, Y. Kimura, Y. Yasuda: Nature 170, 888(1952).

(XII) を合成することが出来た。

元素分析を担当された薬学部板谷芳京氏に深謝する。なお研究費の一部は厚生省科学研究費を仰いだのでここに記して感謝の意を表する。

実 験 の 部

N-Dichloroacetyl-threo- β -phenyl-DL-serine (I) の合成 *threo- β -phenyl-DL-serine*⁹⁾ 18 g を *N* NaOH 100 cc に溶解し、これに抱水クロラル 17 g を水 20 cc に溶解したものを加えて暫く放置、NaCN 0.35 g 及び CaCO₃ 10 g を加え、かきまぜながら殆んど発泡しなくなるまで 70~75° に 3 時間加温、更に 80~85° に 30 分間加熱。冷却後未反応の CaCO₃ を濾去、冷却下 HCl 酸性とすれば無色のプリズム状晶が析出。水より再結晶。プリズム状晶, mp 161~162°. 得量 14.5 g (収率 50%). C₁₁H₁₁O₄NCl₂ (N-dichloroacetyl-*threo- β -phenyl-DL-serine*) 計算値 N 4.79, Cl 24.28, 実験値 N 4.90, Cl 24.56. 本品は dichloroacetyl chloride を用いて合成した⁹⁾ (I) と混融しても融点降下を示さない。

N-Dichloroacetyl-erythro- β -phenyl-DL-serine (IV) の合成 (A) 法 *erythro- β -phenyl-DL-serine*¹⁵⁾ 1.8 g に抱水クロラル 1.7 g NaCN 0.04 g 及び CaCO₃ 1 g を作用せしめて *threo* 型 (I) の場合と同様に dichloroacetyl 化を行う、反応後 HCl 酸性とし AcOEt で数回抽出。溶媒を留去すれば油状の残留物を得。ベンゼンを加え放冷すれば徐々に結晶化。水より再結晶。柱状晶, mp 100~101°. 得量 1.2 g (収率 41%). C₁₁H₁₁O₄NCl₂ (N-dichloroacetyl-*erythro- β -phenyl-DL-serine*) 計算値 N 4.79, Cl 24.28, 実験値 N 4.90, Cl 24.20.

(B) 法 N-dichloroacetyl-*erythro- β -phenyl-DL-serine ethyl ester*: *erythro- β -phenyl-DL-serine ethyl ester HCl 塩*¹⁰⁾ 12.3 g を AcOEt に懸濁し過剰の K₂CO₃ を加えて激しく振ると HCl 塩は遊離して AcOEt に溶解。AcOEt 液を留去すれば粗製の遊離エステル約 9 g を得。これを Et₂O 200 cc に懸濁し、かきまぜながら反応液を常にアルカリ性に保ち、dichloroacetyl chloride 8.8 g の Et₂O 溶液及び K₂CO₃ 液を交互に滴下、約 30 分間激しくかきまぜた後水層を分離、Et₂O 層を dil HCl で 2 回洗浄し未反応のエステルを回収。この操作で約 4 g のエステル HCl 塩が回収される。Et₂O 層は水洗、濃縮し石油エーテルを加えると長柱状の結晶が析出。Et₂O・石油エーテルより再結晶。柱状晶, mp 121~122°. 得量 6.5 g (収率 40%). C₁₃H₁₅O₄NCl₂ (N-dichloroacetyl-*erythro- β -phenyl-DL-serine ethyl ester*)。計算値 N 4.38, 実験値 N 4.42. このエステル 3.2 g を 2% K₂CO₃ 100 cc に懸濁し 70~80° に加温すれば CO₂ を発生しつつ次第に溶解、大部分が溶解したら濾過。濾液を冷却下に HCl 酸性とする。析出した油状物は AcOEt で抽出後溶媒を留去すれば油状の残留物を得。ベンゼンを加えて氷室に放置すれば次第に結晶化。水より再結晶。柱状晶, mp 101~102°. 得量 1.1 g (収率 38%) C₁₁H₁₁O₄NCl₂ 計算値 N 4.79, Cl 24.28, 実験値 N 4.96, Cl 24.10. 本品に対し Bergmann¹⁶⁾ 等は mp 92~93° を記載している。

N-Benzoyl-erythro- β -phenyl-DL-serine (VII) の合成 glycine ethyl ester と benzaldehyde とを 99% EtOH 中で縮合させる方法¹⁵⁾ により合成した *erythro- β -phenyl-DL-serine ethyl ester HCl 塩* (mp 178~180°) を K₂CO₃ で遊離、粗製遊離エステル約 9 g を 60 cc の Et₂O に懸濁し氷冷下激しくかきまぜながら benzoyl chloride 12 g を滴下。同時に K₂CO₃ 液を加えて反応液を常にアルカリ性に保ち、数分後結晶は一旦溶解、再び析出。0° で 2 時間かきまぜた後結晶を濾取。EtOH より再結晶。針状晶, mp 131~133°. 得量 11 g (収率 70%). C₁₈H₁₉O₄N (N-benzoyl-*erythro- β -phenyl-DL-serine ethyl ester*) 計算値 N 4.47, 実験値 N 4.65. ここに得られた N-benzoyl-*erythro- β -phenyl-DL-serine ethyl ester* 9.4 g を 50 cc の水に懸濁、これに EtOH 30 cc 及び *N* NaOH 30 cc を加え 50~60° に加温すれば結晶は次第に溶解、完全に溶解したのち減圧下に EtOH を留去。冷後 HCl 酸性とすれば羽毛状の結晶が析出。水より再結晶。針状晶, mp 177~178°(decomp). 得量 6.6 g (収率 77%). C₁₆H₁₄O₄N (N-benzoyl-*erythro- β -phenyl-DL-serine*) 計算値 N 4.91, 実験値 N 5.05.

N-Dichloroacetyl-threo- β -p-nitrophenyl-DL-serine (XIII) の合成 *p*-nitro-

14) 亀田, 木村, 山添: 金沢大学薬学部研究報告 6, 16(1956).

15) E. Bergmann, M. Geras, H. Bendas: Compt. rend. 231, 361(1950).

16) E. Bergmann, H. Bendas, E. Krakauer: J. Chem. Soc. 1954, 1064.

benzaldehyde と glycine との縮合物を HCl で水解して *threo*- β -*p*-nitrophenyl-DL-serine を合成⁹⁾. これに dichloroacetyl chloride を作用させて合成. 水より再結晶. 白色針状品, mp 193°(decomp). $C_{11}H_{10}O_6N_2Cl_2$ (N-dichloroacetyl-*threo*- β -*p*-nitrophenyl-DL-serine) 計算値 C 39.17, H 2.97, N 8.30, 実験値 C 39.10, H 3.21, N 8.17.

N-Dichloroacetyl-erythro- β -*p*-nitrophenyl-DL-serine (XVI) の合成 *p*-nitrobenzaldehyde と glycine ester との縮合物を HCl で水解して *erythro*- β -*p*-nitrophenyl-DL-serine とし dichloroacetyl chloride を作用させて合成⁹⁾. 水より再結晶. 白色針状品, mp 176°(decomp). $C_{11}H_{10}O_6N_2Cl_2$ (N-dichloroacetyl-*erythro*- β -*p*-nitrophenyl-DL-serine) 計算値 C 39.17, H 2.97, N 8.30, 実験値 C 39.00, H 3.19, N 8.16.

KT 84 アセトンパウダー¹²⁾ による N-dichloroacetyl-*threo*- β -phenyl-DL-serine (I) の不斉水解 (I) の 5.84 g に水 400 cc を加え NaOH で溶解し pH 7.2 に調節. これに KT 84 アセトンパウダー 0.8 g 及びトルエン 2 cc を加え 37° に 6 日間放置すれば水解は終る (Grassmann-Heyde の滴定法による). AcOH で pH 4.5 とし 80° に約 5 分間加熱して蛋白を凝固, 3,000×g で 30 分間遠心分離し更に上澄液に活性炭を加え約 1 時間かきまぜて濾過, 濾液を減圧下に濃縮して約 10 倍量の 99% EtOH を加えれば結晶 (II) が析出, 一夜氷室に放置後濾取, 希 EtOH より再結晶. 無色針状品, mp 199~201°(decomp). $[\alpha]_D^{15} : -31.5^\circ$ (c=2, H₂O). 得量 1.45 g (収率 80%). $C_9H_{11}O_4N$ (*threo*- β -phenyl-L-serine) 計算値 N 7.73, 実験値 N 7.82. (II) を分離した EtOH 溶液は減圧下に濃縮. HCl で pH 1.0 にすれば結晶が析出, AcOEt で抽出, 溶媒を留去, 残留物に石油エーテルを加えればただちに結晶化 (III) 水より再結晶. 長針状品, mp 161~162°. $[\alpha]_D^{15} : -16.5^\circ$ (c=2, EtOH). 得量 2.2 g (収率 75%). $C_{11}H_{11}O_4NCl_2$ (N-dichloroacetyl-*threo*- β -phenyl-D-serine) 計算値 N 4.79, 実験値 N 4.96. 本品 (III) に KT 84 アセトンパウダーを作用させたが水解は認められず (III) を回収するにとどまつた.

N-Dichloroacetyl-*threo*- β -phenyl-L-serine (XI) (II) の 0.72 g を N NaOH 4 cc に溶解し, 抱水クロラル 0.65 g, NaCN 0.02 g 及び CaCO₃ 0.4 g を作用せしめ前記 (I) の如く dichloroacetyl 化を行つた. 水より再結晶. 長針状品, mp 162~163°. $[\alpha]_D^{15} : +17.0^\circ$ (c=2, EtOH). 得量 0.55 g (収率 47%). $C_{11}H_{11}O_4NCl_2$ (N-dichloroacetyl-*threo*- β -phenyl-L-serine) 計算値 N 4.79, 実験値 N 4.93.

N-Benzoyl-*threo*- β -phenyl-L-serine (II) の 0.18 g を 0.5N NaOH 2 cc に溶解し, 常法に従い benzoyl chloride 0.15 g 及び N NaOH 1.5 cc を加え 30 分間攪拌. 反応後 HCl で pH 1.0 とすれば白色結晶が析出, 冷後濾取, 石油エーテルで温浸後水より再結晶. 針状品, mp 118~119°. $[\alpha]_D^{15} : -32.7^\circ$ (c=2, N NaOH). 得量 0.17 g (収率 60%). $C_{16}H_{15}O_4N$ (N-benzoyl-*threo*- β -phenyl-L-serine) 計算値 N 4.91, 実験値 N 4.83.

N-*p*-Nitrobenzoyl-*threo*- β -phenyl-L-serine (II) の 0.18 g を 0.5N NaOH 2 cc に溶解し, MgCO₃ 0.05 g を加えて氷冷, *p*-nitrobenzoyl chloride 0.2 g のベンゼン溶液を滴下後, 約 1 時間かきまぜて HCl 酸性とすれば沈澱が析出, 冷後濾取, 少量の Et₂O で洗浄後水より再結晶. 白色羽毛状品, mp 79~82°. 乾燥器中で充分乾かすと, mp 152~154°(decomp). $[\alpha]_D^{15} : -70.5^\circ$ (c=0.5, 0.5N NaOH). 得量 0.23 g (収率 70%). $C_{16}H_{14}O_6N_2$ (N-*p*-nitrobenzoyl-*threo*- β -phenyl-L-serine) 計算値 N 8.48, 実験値 N 8.57. 本品は本庄¹⁷⁾ の記載と一致.

KT 83 アセトンパウダー¹²⁾ による N-dichloroacetyl-*threo*- β -phenyl-D-serine (III) の酵素的水解 (III) の 2.92 g に水 200 cc を加え NaOH で溶解し pH 7.2 に調節. これに KT 83 アセトンパウダー 0.4 g 及びトルエン 1 cc を加え 37° に 4 日間放置. AcOH で pH 4.5 とし 80° に約 5 分間加熱後凝固した蛋白を 30 分間 3,000 g で遠心分離, 上澄液に活性炭を加え 1 時間かきまぜて濾過, 濾液を減圧下に濃縮, 数倍量の 99% EtOH を加えれば (IX) が析出, もし (IX) が結晶化しない場合は EtOH を留去, 残留物を水に溶かし HCl 酸性として AcOEt で抽出, 水層を減圧下に乾固, 20% HCl 含有 99% EtOH を加え暫時加温したのち 1 夜放置. 不溶性の NaCl を濾去, 濾液は EtOH を留去して 10% HCl を加えて 2 時間加熱後再び減圧乾固, 残留物を少量の 99% EtOH に溶解して conc NH₄OH で中和すれば (IX) が析出. 希 EtOH より再結晶. 無色針状品, mp 199~201°(decomp). $[\alpha]_D^{17} : +32^\circ$ (c=2, H₂O). 得量 1.2 g (収率 66.5%). $C_9H_{11}O_3N$ (*threo*- β -phenyl-D-serine) 計算値 N 7.73, 実験値 N 7.85. なお (III) を 10% HCl で水解しても (IX) が得られる. 針状品, mp 184~186°(decomp). $[\alpha]_D^{15} : +32.2^\circ$ (c=2, H₂O). $C_9H_{11}O_3N$ (*threo*- β -phenyl-D-serine) 計算値 N 7.73, 実験値 N 7.76.

N-Benzoyl-*threo*- β -phenyl-D-serine (IX) の 0.18 g を 0.5N NaOH 2 cc に溶解し常法に従い benzoyl chloride 0.15 g 及び N NaOH 1.5 cc を加えてベンズイル化, 水より再結晶. 針状品, mp 119~121°. $[\alpha]_D^{15} : +33.0^\circ$ (c=2, N NaOH). 得量 0.17 g (収率 60%). $C_{16}H_{15}O_4N$ 計算値 N 4.91, 実験値 N 4.99.

KT 84 アセトンパウダーによる N-dichloroacetyl-*erythro*- β -phenyl-DL-serine (IV) の不斉水解 (IV) の 5.84 g に水 400 cc を加え NaOH で溶解し pH 7.2 に調節. これに KT 84 アセトンパウダー 0.8 g 及びトルエン 2 cc を加えて 37° に 2 日間放置. 前記 (III) の酵素的水解の場合と同様に処理し水層と AcOEt 層に分離, 水層より *erythro*- β -phenyl-L-serine (V) を得. 希 EtOH より再結晶. 板状品, mp 184~185°(decomp). $[\alpha]_D^{15} : +78^\circ$ (c=1, 5N HCl). 得量 1.34 g (収率 74%). $C_9H_{11}O_3N$ (*erythro*- β -phenyl-L-serine) 計算値 N 7.73, 実験値 N 7.65. AcOEt 層は溶媒を留去, 油状の残留物は石油エーテルで洗浄, 少量のベンゼンを加え

氷室に 1 夜放置すれば固化, これをベンゼンより再結晶. mp 74~75°. $[\alpha]_D^{20}$: -38.5° (c=2, EtOH). 得量 1.2 g (収率 41%). $C_{11}H_{11}O_4NCl_2$ (N-dichloroacetyl-erythro- β -phenyl-D-serine) (VI) 計算値 N 4.76, 実験値 N 4.88. 本品に KT 84 アセトンパウダーを作用させたが水解は認められず (VI) が回収された.

N-Dichloroacetyl-erythro- β -phenyl-L-serine (XII) (V) の 0.36 g を N NaOH 2 cc に溶解, 抱水クロラル 0.32 g, NaCN 0.01 g 及び $CaCO_3$ 0.2 g を作用させて (I) に於けると同様に dichloroacetyl 化を行う. 反応成績体は油状物として得られるが少量のベンゼンを加え, 4~5 日間氷室に放置すれば徐々に結晶化, ベンゼンより再結晶. 針状品, mp 73~74°. $[\alpha]_D^{20}$: +39.5° (c=2, EtOH). 得量 0.18 g (収率 31%). $C_{11}H_{11}O_4NCl_2$ (N-dichloroacetyl-erythro- β -phenyl-L-serine) 計算値 N 4.79, 実験値 N 4.86. 本品を N-dichloroacetyl-erythro- β -phenyl-D-serine と混融すれば mp 96~99° を示す. 因みに DL 体は mp 101~102° である.

KT 83 アセトンパウダーによる N-dichloroacetyl-erythro- β -phenyl-D-serine (VI) の酵素的な水解 (VI) の 2.92 g に水 200 cc を加え NaOH で溶解し pH 7.2 に調節. これに KT 83 アセトンパウダー 0.8 g 及びトルエン 1 cc を加えて 37° に 2 日間放置. KT 83 アセトンパウダーによる (III) の酵素的な水解の場合と同様に処理すると erythro- β -phenyl-D-serine (X) が得られる. $H_2O \cdot EtOH$ より再結晶. 板状品, mp 184~185° (decomp), $[\alpha]_D^{20}$: -79° (c=1, 5N HCl). 得量 1.32 g (収率 73%). $C_9H_{11}O_3N$ (erythro- β -phenyl-D-serine) 計算値 N 7.73, 実験値 N 7.81.

KT 84 アセトンパウダーによる N-benzoyl-erythro- β -phenyl-DL-serine (VII) の不斉水解 (VII) の 5.7 g に水 400 cc を加え NaOH で溶解し pH 7.2 に調節. これに KT 84 アセトンパウダー 0.8 g 及びトルエン 2 cc を加え 37° に 4 日間放置. これを (I) の不斉水解の場合と同様に処理すれば erythro- β -phenyl-L-serine (V), N-benzoyl-erythro- β -phenyl-D-serine (VIII) 及び安息香酸を得. (V) は希 EtOH より再結晶, 板状品. mp 184~185° (decomp). $[\alpha]_D^{20}$: +81° (c=1, 5N HCl). 得量 1.2 g (収率 66%). $C_9H_{11}O_3N$ (erythro- β -phenyl-L-serine) 計算値 N 7.73, 実験値 N 7.65. (VIII) は 30% EtOH より再結晶. 針状品. mp 178~180° (decomp). $[\alpha]_D^{20}$: -22° (c=2, EtOH). 得量 2.3 g (収率 81%). $C_{10}H_{13}O_4N$ (N-benzoyl-erythro- β -phenyl-D-serine) 計算値 N 4.91, 実験値 N 5.08. 石油エーテル溶液より mp 118~120° の板状品として安息香酸 1.1 g (収率 90%) を得.

N-Benzoyl-erythro- β -phenyl-L-serine (V) の 1.8 g を N NaOH 10 cc に溶解し常法に従い benzoyl chloride 1.4g 及び N NaOH 15 cc で benzoyl 化. 30% EtOH より再結晶. 針状品, mp 178~179° (decomp). $[\alpha]_D^{20}$: +21.0° (c=2, EtOH). 得量 1.7 g (収率 60%). $C_{10}H_{15}O_4N$ (N-benzoyl-erythro- β -phenyl-L-serine) 計算値 N 4.91, 実験値 N 5.10.

KT 84 菌体浮遊液による N-dichloroacetyl-threo- β -p-nitrophenyl-DL-serine (XIII) の不斉水解 内容 500 cc の培養フラスコ 4 個にブイオン (pH 7.2) 200 cc 宛を入れ, 滅菌後 KT 84 をうえ 25° に 3~4 日間培養. 遠心分離 (3,000 g, 30 分) により集菌, 蒸留水で 2 回洗浄して得た菌体を用いる. (XIII) 2.52 g に水 150 cc を加え NaOH で溶解し pH 7.2 に調節. これに上記の菌体及びトルエン 2 cc を加え 37° に 10 日間放置. 遠心分離 (3,000 g, 30 分) により菌体を除き, 水溶液を減圧下に乾固, 残留物を水 15 cc に溶解, HCl 酸性とし AcOEt で抽出, 水層と AcOEt 層にわけ. 水層は減圧下に乾固, 少量の水にとかし NH_4OH で中和, 析出せる結晶を希 EtOH より再結晶. 白色針状品, mp 209° (decomp). $[\alpha]_D^{20}$: -40° (c=1, 5N HCl). 得量 0.10 g (収率 11.8%). $C_9H_{10}O_5N_2$ (threo- β -p-nitrophenyl-L-serine) 計算値 N 12.39, 実験値 N 12.16. AcOEt 層は溶媒留, 残留物を水より再結晶. 白色針状品, mp 192° (decomp). $[\alpha]_D^{20}$: 0° (c=1, EtOH). 0.12 g を得. 本品は N-dichloroacetyl-threo- β -p-nitrophenyl-DL-serine (XIII) である. この母液から針状品, mp 168° (decomp). $[\alpha]_D^{20}$: -25° (c=1, EtOH). 0.67 g (収率 53.8%) を得. $C_{11}H_{10}O_6N_2Cl_2$ (N-dichloroacetyl-threo- β -p-nitrophenyl-D-serine) 計算値 N 8.30, 実験値 N 8.28.

KT 83 アセトンパウダーによる N-dichloroacetyl-threo- β -p-nitrophenyl-D-serine (XV) の酵素的な水解 (XV) 0.55 g に水 33 cc を加え NaOH で溶解し pH 7.2 に調節. KT 83 アセトンパウダー 0.2 g 及びトルエン 1 cc を加え 37° に 2 日間放置. (XIII) の不斉水解の場合と同様に処理して水溶液より白色針状品, mp 209° (decomp). $[\alpha]_D^{20}$: +40° (c=2, 5N HCl). 0.09 g (収率 24.5%) を得. $C_9H_{10}O_5N_2$ (threo- β -p-nitrophenyl-D-serine) 計算値 N 12.39, 実験値 N 12.36.

KT 84 アセトンパウダーによる N-dichloroacetyl-erythro- β -p-nitrophenyl-DL-serine (XVI) の不斉水解 (XVI) 3.36 g に水 200 cc を加え NaOH で溶解し pH 7.2 に調節. KT 84 アセトンパウダー 0.4 g 及びトルエン 2 cc を加え 37° に 2 日間放置. (XIII) の不斉水解の場合と同様に処理して水層から白色針状品, mp 209° (decomp). $[\alpha]_D^{20}$: +107° (c=2, 5N HCl). 0.52 g (収率 46%) を得. $C_9H_{10}O_5N_2$ (erythro- β -p-nitrophenyl-L-serine) (XVII) 計算値 N 12.39, 実験値 N 12.41. AcOEt 層からは白色針状品, mp 188~189° (decomp). $[\alpha]_D^{20}$: -48° (c=2, EtOH). 1.5 g (収率 89.5%) を得. $C_{11}H_{10}O_6N_2Cl_2$ (N-dichloroacetyl-erythro- β -p-nitrophenyl-D-serine) (XVIII) 計算値 N 8.30, 実験値 N 8.27.

KT 83 アセトンパウダーによる N-dichloroacetyl-erythro- β -p-nitrophenyl-D-serine (XVIII) の酵素的な水解 (XVIII) 0.84 g に水 50 cc を加え NaOH で溶解し pH 7.2 に調節. KT 83 アセトンパウダー 0.4 g 及びトルエン 1 cc を加え 37° に 5 日間放置後, (XIII) の場合と同様に処理して水溶液より mp 209° (decomp). $[\alpha]_D^{20}$: -107° (c=2, 5N HCl). 0.14 g (収率 24.9%) を得. $C_9H_{10}O_5N_2$ (erythro- β -p-nitrophenyl-D-serine) 計算値 N 12.39, 実験値 N 12.20.