Viridicatin—mp 267°, 無色針状晶 (アセトン), $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm: 244 (sh), 290, 309 (sh), 320, 331.5. Mass Spectrum m/e : 237 (M^+ , $C_{15}H_{11}O_2N$). ここに得た結晶は標品の viridicatin と混融, TLC (silica gel plate, CHCl_3 -EtOH (10:1), ベンゼン-アセトン (5:1), アセトン-MeOH (20:1)) で一致した.

Viridicatol—mp 271—273°, 無色針状晶 (酢酸エチル), $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm: 244 (sh), 287, 307 (sh), 318, 331. Mass Spectrum m/e : 253 (M^+ , $C_{15}H_{11}O_3N$). NMR in d_6 -DMSO, δ (ppm) from TMS: 6.73 (3H, multiplet), 7.10 (2H, multiplet), 7.32 (3H, multiplet)···arom.-H, 9.02 (1H, multiplet), 9.45 (1H, multiplet)···arom.-OH or -NH, 12.11 (1H, singlet),···arom.-OH.

Citreoviridin の分離 毒性を示した *P. citreoviride* 4 株の酢酸エチルエキスを, 合計 3.82 g を silica gel カラムクロマトにかけ, CHCl_3 -アセトン (5:1) 溶出部を再び同様のカラムクロマトにかけて CHCl_3 -アセトン (10:1) 溶出部から citreoviridin (678 mg) を得た. ここに得られた citreoviridin は標品と UV スペクトル $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm: 236, 287 (sh), 296, 392 および TLC (silica gel plate, *n*-ヘキサン-アセトン (1:1), CHCl_3 -MeOH (15:1), エーテル-アセトン (5:1)) で完全に一致した.

謝辞 (+)-Rugulosin, viridicatin, citreoviridin の標品を恵与された東京大学 柴田教授, Imperial College D.H.R. Barton 教授, 東京理大 上野助教授に感謝します. NMR, Mass, IR, $[\alpha]_D$ は千葉大薬学部で測定しました. また本研究の一部は厚生省がん研究助成金によりました. あわせて感謝します.

薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
92 (1) 104—108 (1972)

UDC 539.166 : 615.282

放射線化学反応による抗生物活性物質の形成について——クロラムフェニコール分子を構成する成分混合物の γ 線照射による抗菌作用の出現——

為政 脩, 五島廉輔

静岡薬科大学¹⁾

On the Formation of Antibiological Substances by Radiation-Chemical Reaction—Occurrence of Antibacterial Activity after γ -Ray Irradiation from Two Constituent Moieties of Chloramphenicol Molecule—

OSAMU TAMEMASA and RENSUKE GOTO

Shizuoka College of Pharmacy¹⁾

(Received September 9, 1971)

In order to develop a new molecular species of compounds with antibiological activities by the application of radiation-chemical reactions, a model experiment was carried out to see whether chloramphenicol would be formed by irradiation of ^{60}Co γ -ray to some mixtures of nitrobenzene, *p*-nitrophenol, or *p*-bromonitrobenzene, and 2-dichloroacetamido-propane-1,3-diol.

The results showed that after irradiation of $100\text{--}200 \times 10^4$ R, antibacterial activities against *E. coli* and *St. aureus* of only the aqueous mixture of nitrobenzene and 2-dichloroacetamidopropane-1,3-diol were about 4—8 times greater than those of each irradiated component or of the mixture of each irradiated component. No formation of chloramphenicol itself was, however confirmed in the irradiation products by means of paper chromatography, bioautography, radiopaper chromatography, or Sephadex G-10 gel filtration.

放射線による化学反応は低分子の無機・有機の化学反応ならびに高分子化学関係の分野において, かなり広く応用されている.²⁾ しかしながら, 放射線を物質に照射し, その照射成績体の生物学的あるいは抗生物学的な作用を調べた報告は, 並木ら³⁾ のフェノール誘導体の γ 線照射による抗菌力の増大作用, 萩谷ら⁴⁾ の不飽和脂肪酸の γ 線

1) Location: 2-2-1, Oshika, Shizuoka.

2) J.W. Spinks, R.J. Woods, 阿部俊彦他訳, “放射線化学入門,” 産業図書, 1967, pp. 166—355.

3) M. Namiki, A. Mathuyama, *Org. Biol. Chem.*, **29**, 525—532 (1965); *idem, ibid.*, **29**, 533—539 (1965).

4) 萩谷 彬, 保坂安太郎, 特許公告, No. 8808 昭和 38 年 6 月.

照射による抗ガン性物質の生成, 吉村ら⁵⁾のエンドキサンの γ 線照射による細胞増殖抑制効果の上昇についての報告のほかは文献上ほとんど見当たらないようである. 著者らは有機物の単独または混合物に放射線照射を行なって, そこに生成するかもしれない抗生物学的物質を探索する目的で, 今回一つのモデル実験として, クロラムフェニコール (CP) 分子の構成成分であるニトロベンゼン (NB) およびその誘導体と 2-dichloroacetamidopropane-1,3-diol (DAP) との混合物に γ 線照射を試み, その照射物について抗菌作用および CP の生成の可能性について検討した.

1. 抗菌力試験

まず, γ 線照射後の抗菌力試験の結果は次のごとくであった.

1.1 DAP と NB との混合物照射の場合 DAP と NB との混合物水溶液 (各 10^{-2}M) に $100\text{--}200 \times 10^4\text{R}$ の γ 線照射を行なった場合の *E. coli* にたいする抗菌力は, 対照に用いたそれぞれの水溶液の単独照射または単独照射後の混合液の場合よりもいずれも同一濃度において 4—8 倍強い抗菌力がみられた (Table I). 照射しない被照射物質の抗菌力は照射物質の場合と同一の希釈濃度では認められなかった. このことは *St. aureus* にたいしても同様であった (Table II). 固体の DAP と NB とを単純に混合した状態で, およびあらかじめその混合物を熔融した後, 固化した状態で照射した場合はいずれも Table I に記載した同一の被照射物質の濃度において, *E. coli* にたいする抗菌力の上昇は認められなかった.

1.2 DAP と *p*-Nitrophenol (NP) または *p*-Bromonitrobenzene (BNB) との混合物照射の場合 DAP と NP

TABLE I. Antibacterial Action against *E. coli*

Sub.	No. of serial dilution (1:1)	Dose of γ -ray ($\times 10^4\text{R}$)					
		0	5	25	50	100	200
A (No.5)	1 ^{a)}	+	+	—	—	—	—
	2	+	+	+	—	—	—
	3	+	+	+	+	—	—
	4	+	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+	+
B (No.1) + (No.2)	1 ^{a)}	+	+	+	+	+	—
	2	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+	+
C (No.1)	1 ^{a)}	+	+	+	+	+	—
	2	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+	+
D (No.2)	1 ^{a)}	+	+	+	+	+	—
	2	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+	+

+: growth

—: no growth

A: lyophilized residue from the irradiated mixture (NB+DAP)

B: lyophilized residue from a mixture (NB+DAP) of equivalent volume after irradiation of each component

C: lyophilized residue from irradiated DAP

D: lyophilized residue from irradiated NB

a) The DAP or NB concentration of No. 1 corresponded to $5 \times 10^{-3}\text{M}$ ignoring the amount of that altered by γ -ray irradiation.

5) 吉村彰介, 蒲生鉄夫, 井上俊彦, 小塚隆広, 日本医学放射線学会雑誌, 26, 759—760 (1966).

TABLE II. Antibacterial Action against *St. aureus*

Sub.	No. of serial dilution (1:1)	Dose of γ -ray($\times 10^4$ R)			
		25	50	100	200
A (No. 5)	1 ^{a)}	+	—	—	—
	2	+	+	—	—
	3	+	+	+	—
	4	+	+	+	+
	5	+	+	+	+
B (No. 1) + (No. 2)	1 ^{a)}	—	+	+	+
	2	+	+	+	+
	3	+	+	+	+
	4	+	+	+	+
	5	+	+	+	+
C (No. 1)	1 ^{a)}	—	+	+	+
	2	+	+	+	+
	3	+	+	+	+
	4	+	+	+	+
	5	+	+	+	+
D (No. 2)	1 ^{a)}	+	+	+	+
	2	+	+	+	+
	3	+	+	+	+
	4	+	+	+	+
	5	+	+	+	+

+: growth

—: no growth

A,B,C and D: are identical with notation indicated in the legend of Table I.

a) The DAP or NB concentration of No. 1 corresponded to 5×10^{-3} M ignoring the amount of that altered by γ -ray irradiation.

または BNB との混合物溶液 (各 10^{-2} M) の照射の場合には, *E. coli* にたいする抗菌力の上昇は Table I に記載した同一の被照射物質の濃度において, いずれの場合も認められなかった。

2. 抗菌力を示す物質が CP であるか否かの検討

1.1 の実験において抗菌力のある程度の上昇が確実に認められたので, 次にこの抗菌力を示す物質の本体が CP である可能性を次のように種々検討した。

2.1 ロ紙クロマトグラフィーについて 抗菌力を示す物質が CP である可能性を数種の溶媒を用い, ニトロ基の検出に基づいて検討したところ, *R_f* 値は CP と近似の値を示したが色調に若干の差異があり確実な確認はできなかった。

2.2 バイオオートグラフィーについて ロ紙クロマトグラフィーで得られたクロマトグラムを用いて行なったところ, CP 相当部に弱い阻止円がみられたが, この検出にはよい再現性が認められなかった。

2.3 ロ紙クロマトラジオスキャンニングについて CP の生成を極微量で放射能的に検出する目的で, DAP と NB-¹⁴C または NP-³H との混合物水溶液を 10^6 R 照射後, 2.1 に記載したと同様にロ紙クロマトグラフィーを行ない, スキャンニングを行なった結果では CP 相当部に顕著な放射能のピークは認められなかった。またさらに CP 相当部を水で抽出し, 再度ロ紙クロマトグラフィーを行なったが CP 相当部に放射能は検出されなかった。

2.4 セファデックス G-10 による分離について 上記 2.3 の照射成績体についてセファデックス G-10 を用いて分離を行ない, 標準品 CP-¹⁴C と比較したがいずれの場合も CP 相当部に放射能ピークは認められなかった (Fig. 1)。

考

察

以上の結果, DAP と NB との混合物水溶液に (5×10^4 — 2×10^6 R) γ 線照射を行なうと, それぞれの単独

Fig. 1. Separation of the irradiated Substances by Sephadex G-10; ---- NB-¹⁴C + DAP, — · — NP-³H + DAP, — CP-¹⁴C (Authentic Sample)

害を指標とする制ガン剤のスクリーニング，組織培養を利用する細胞発育阻害実験あるいは微量で実施可能な薬理作用の検出などに応用できることを示唆している。

実験の部

1. γ 線照射実験法 被照射材料——DAP: Ashley⁶⁾らの方法に準じて合成。白色リン片状結晶，mp 142—143°。NB, NP, BNB: いずれも市販品を用いた。NB-¹⁴C (比放射能: 3.2 mCi/mmmole), CP-¹⁴C (比放射能: 10.2 mCi/mmmole): 第一化学薬品社より購入。NP-³H: Wilzbach 変法装置⁷⁾を用い NP の微細粉末 1g を ³H ガス 8 Ci と封管中で 2 週間放置し，常法により不安定トリチウム除去後，再結晶をくり返して精製した (比放射能: 2.27 mCi/mmmole)。

照射方法——下記の種々の条件で被照射物質の単独または混合物を試験管にとり，空気の下で封管し，⁶⁰Co γ 線照射 (線量率: 5×10^4 R/hr, 総 R 量: 5×10^4 — 2×10^6 R) を行なった。被照射物質溶液はすべて 20 ml であり，No. 4, 7 の 95% エタノール溶液以外すべて水溶液を用いた。また No. 12, 13, 14, 15 は固体の状態では照射した。

No. 1. 10^{-2} M DAP, No. 2. 10^{-2} M NB, No. 3. 10^{-2} M NP, No. 4. 10^{-2} M BNB, No. 5. 10^{-2} M DAP + 10^{-2} M NB 混合物, No. 6. 10^{-2} M DAP + 10^{-2} M NP 混合物, No. 7. 10^{-2} M DAP + 10^{-2} M BNB 混合物, No. 8. 10^{-2} M NB-¹⁴C (比放射能: 150 μ Ci/mmmole), No. 9. 10^{-2} M DAP + 10^{-2} M NB-¹⁴C (比放射能: 150 μ Ci/mmmole) 混合物, No. 10. 10^{-2} M NP-³H (比放射能: 250 μ Ci/mmmole), No. 11. 10^{-2} M DAP + 10^{-2} M NP-³H (比放射能: 250 μ Ci/mmmole) 混合物, No. 12. 0.2 mmole DAP, No. 13. 0.2 mmole NB-¹⁴C (比放射能: 200 μ Ci/mmmole), No. 14. 0.2 mmole DAP + 0.2 mmole NB-¹⁴C (比放射能: 200 μ Ci/mmmole) 混合物 (単に混合状態), No. 15. 0.5 mmole DAP + 0.4 mmole NB-¹⁴C (比放射能: 50 μ Ci/mmmole) 混合物 (熔融後固化したもの)。

2. 抗菌力試験法 すべての場合照射液 0.5 ml を凍結乾燥，滅菌後，培地 (*E. coli* では塩-グルコース液体培地，*St. aureus* では Knight の半合成培地⁸⁾) 1 ml を加え，これの倍数希釈液に菌を接種し，24 時間後の肉眼による発育状態を観察した。対照に用いたそれぞれの希釈における非照射物，単独照射物および単独照射後の混合物の培地中濃度はすべて混合物照射の場合のそれと等しくなるように調製した。

3. 生成物質の検出・確認法 3.1 ロ紙クロマトグラフィー——i) 水飽和ブタノール + 2.5% 酢酸, ii) ベンゼン: メタノール (4: 1), iii) 水飽和フェノール, iv) エタノール + 3% 塩化アンモニウム (2: 1) の溶媒系を用いて展開後，ニトロ基検出試薬⁹⁾ (塩化第一スズ水溶液，ジメチルアミノベンズアルデヒド水溶液の順に吹霧) を用いてニトロ基体の検出を行なった。

照射後の混合物または被照射原料混合物の抗菌力よりも約 4—8 倍の抗菌力が認められた。しかしこの抗菌作用はロ紙クロマトグラフィー，バイオオートグラフィーまたは被照射原料に放射性物質を用い照射後ロ紙クロマトラジオスキャンニングまたはセファデックスによる分離後の放射能検出によって，CP の抗菌性によるものでないことが判明した。したがって本照射実験による抗菌力の増強がいかなる物質の生成によるものか現在までのところ不明である。また照射条件として水溶液以外の場合にはほとんど抗菌力が認められなかったことから水の存在は重要な条件であると考えられる。

本実験は γ 線照射による抗菌力出現のモデル実験としての最初の意図は達せられなかったが， γ 線照射合成が抗生物質の探索の研究に応用できることを示し，特にその生物学的活性が微量で検出できる場合，たとえば，抗微生物作用，タンパク・核酸の生合成阻

6) J.N. Ashley, M. Davis, *J. Chem. Soc.*, 1952, 63.

7) 岡田昌二，為政 脩，*Radioisotopes*, 14, 42 (1965).

8) “細菌学実習提要”，伝染病研究所学友会編，丸善，1958, p. 85.

9) G.N. Smith, C.S. Wonel, *Arch. Biochem. Biophys.*, 28, 1—9 (1950).

3.2 バイオオートグラフィー——常法に従い、上記 3.1 のロ紙クロマトグラムについて、*E. coli* にたいする阻止円の有無を検討した。

3.3 ロ紙クロマトラジオスキャンニング——NB- ^{14}C を用いた照射試料について、上記 3.1 の ii) の溶媒を用いて展開後、スキャンニングを行なった。

3.4 セファデックスによる分離——放射性化合物を用いた照射試料の一定量をセファデックス G-10 カラムを用いて 1g ずつ分取し、試料皿に移し、乾燥後その放射能 (^{14}C または ^3H) をガスフローカウンターを用いて測定した。

謝辞 本研究に協力された本学学生 長島不二彦君に感謝する。

〔薬 学 雑 誌〕
YAKUGAKU ZASSHI
92 (1) 108—110 (1972)

UDC 547.255.6'232 : 543.422.6

窒素含有糖類 (第 7 報¹⁾) 1,2-ジデオキシ-1-ニトロアルコールアセテートの円二色性²⁾

佐藤千代子, 柴 賢司, 清本昭夫

田辺製薬株式会社生物研究所³⁾

Nitrogen-containing Carbohydrate Derivatives. VII.¹⁾ The Circular Dichroism of 1,2-Dideoxy-1-nitro Alcohol Acetates²⁾

CHIYOKO SATOH, KENJI SHIBA and AKIO KIYOMOTO

Biological Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.³⁾

(Received September 10, 1971)

Circular dichroism (CD) and optical rotatory dispersion (ORD) of peracetates of 1,2-dideoxy-1-nitro alcohols, in which C-3 is the nearest asymmetric carbon to the nitro chromophore, were measured. Their CD curves showed a maximum at about 270 m μ . A second absorption band near 310 m μ was suggested by a tailing of the CD curves toward longer wavelengths. Compounds that have an acetoxyl group on the left side of C-3 in the conventional Fischer projection formula exhibited negative CD maxima, while a compound which has an acetoxyl group on the right side of C-3 showed a positive CD maximum.

炭水化物 C-ニトロアルコール類のうちで、C-2 位が不整である 1-デオキシ-1-ニトロアルコール類が示す円二色性 (circular dichroism, (CD)) の極大の符号と、その C-2 位立体配置との間には、一定の関係のあることが見出され、先にわれわれはこれを報告した。⁴⁾ 同様な関係が、C-2 位は不整でなく、C-3 位が不整である 1,2-ジデオキシ-1-ニトロアルコール類の CD 極大の符号と C-3 位立体配置との間にも認められた。¹⁾ 本報では、C-3 位置換基がアセトキシル基となっている 1,2-ジデオキシ-1-ニトロアルコールアセテート類の CD および旋光分散 (optical rotatory dispersion, (ORD)) を測定した結果を報告する。

結 果 と 考 察

次の 3 化合物, 3,4,5,6-tetra-O-acetyl-1,2-dideoxy-1-nitro-D-arabino-hexitol (1),¹⁾ 3,4,5,6,7-penta-O-acetyl-1,2-dideoxy-1-nitro-D-manno-heptitol (2),¹⁾ 3,4,5,6,7-penta-O-acetyl-1,2-dideoxy-1-nitro-D-galacto-heptitol (3)¹⁾ について、紫外吸収スペクトル (UV), ORD 曲線, CD 曲線を測定し、Fig. 1,2,3 に示した。これらの化

1) 第 6 報: C. Satoh, K. Shiba, A. Kiyomoto, *Carbohydrate Res.*, in press

2) 日本薬学会関東支部例会で発表, 東京, 1968 年 10 月。

3) Location: Kawagishi, Toda-shi, Saitama.

4) C. Satoh, A. Kiyomoto, T. Okuda, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 12, 518 (1964); C. Satoh, A. Kiyomoto, *Carbohydrate Res.*, 3, 248 (1966); C. Satoh, A. Kiyomoto, T. Okuda, *ibid.*, 5, 140 (1967); C. Satoh, A. Kiyomoto, *ibid.*, 7, 138 (1968).