

原 著

サイクロセリンによる  $\beta$ -アミノイソ酪酸および  
 $\beta$ -アラニン代謝阻害

第2報  $\beta$ -アミノオキシアラニンおよび  $\alpha$ -ケト酸結合物質について

安 光 勉

大阪大学医学部第1外科 (主任 曲直部寿夫 教授)

受付 昭和 48 年 2 月 14 日

INHIBITORY EFFECT OF D-CYCLOSERINE ON  $\beta$ -AMINOISOBUTYRIC  
ACID AND  $\beta$ -ALANINE METABOLISM\*

II. Inhibition of  $\beta$ -aminoisobutyrate: Pyruvate and  $\beta$ -alanine:  
 $\alpha$ -Ketoglutarate Aminotransferases by  $\beta$ -aminoxyalanine  
and its Conjugate with  $\alpha$ -keto Acids which are  
Metabolites of D-cycloserine

Tsutomu YASUMITSU

(Received for publication February 14, 1973)

In the preceding paper, it was reported that the increase in the amount of urinary D- $\beta$ -aminoisobutyrate ( $\beta$ -AIB) and  $\beta$ -alanine was resulted from the inhibition of  $\beta$ -AIB: pyruvate aminotransferase and  $\beta$ -alanine:  $\alpha$ -ketoglutarate aminotransferase by D-cycloserine (CS) or its metabolites. A maximal concentration of CS in the liver of rats which were administered intraperitoneally at a dose of 20 mg of the drug per 100 g of body weight showed only a slight inhibitory effect on the enzyme reactions. The concentration of  $\beta$ -AIB and  $\beta$ -alanine in rat liver reached to maximal level 4 hours after the injection of CS when CS was barely detectable in the liver. This suggested that the inhibition is due to a metabolite of CS rather than CS itself. Presence of the inhibitory substance was studied in the present paper.

For the isolation of the inhibitors, rats were used and male mice were used for toxicity test of the drugs. Determination method of  $\beta$ -AIB: pyruvate and  $\beta$ -alanine:  $\alpha$ -ketoglutarate aminotransferase was reported previously. Rabbit liver was used for the study of enzymatic conjugation of  $\beta$ -AOAL and  $\alpha$ -keto acids. CS was determined using a high voltage electrophoresis.

An inhibitory metabolite of CS was detected in the rat liver after CS injection in a preliminary experiment, and the same inhibitory substance was found in urine of rats which were injected CS intraperitoneally. The inhibitor was purified from the rat urine using combination of ion-exchange chromatographies, and was identified as  $\beta$ -aminoxyalanine from its behavior on paper chromatography, paper electrophoresis and ion exchange chromatography. In order to confirm the identification, the isolated compound was

\* From the First Department of Surgery, Osaka University Medical School, Fukushima-ku, Osaka 553 Japan.

conjugated with pyridoxal phosphate and compared with  $\beta$ -aminoxyalanine-pyridoxal phosphate conjugate on the chromatographies and UV-spectrum. The results verified the above identification. The concentration of  $\beta$ -aminoxyalanine required for 50% inhibition of  $\beta$ -AIB: pyruvate and  $\beta$ -alanine:  $\alpha$ -ketoglutarate aminotransferases was  $10^{-6}$  M while that of CS was  $10^{-3}$  M. The above results support hypothesis that a metabolite of CS,  $\beta$ -aminoxyalanine, is the major substances with inhibitory effect on the aminotransferases.

During the isolation experiment of inhibitory substances derived from CS, another fraction of ion exchange chromatography different from those of CS and  $\beta$ -aminoxyalanine was also found to contain an inhibitory substance. The substance was acidic. When CS or  $\beta$ -aminoxyalanine was incubated with substrates of transamination reaction, enzymic formation of a conjugated compound of  $\beta$ -aminoxyalanine and keto acids was found.  $\beta$ -aminoxyalanine and glyoxalate was incubated with rat liver extract, and the enzyme product was purified using ion exchange chromatography to isolate a crystalline material. Elementary analysis matched that of  $C_5H_8N_2O_5$ . This was a Schiff base of  $\beta$ -aminoxyalanine and glyoxalate. The concentration of the base required for 50% inhibition of  $\beta$ -AIB: pyruvate aminotransferase was roughly  $3 \times 10^{-5}$  M.

It is known that CS has various side effects in clinical use including headache, anxiety and convulsion. Experiment for acute toxicity of  $\beta$ -aminoxyalanine was carried out by using mice. LD 50 was 2.6g per kg of body weight which is slightly lower than that of CS. It was interesting that convulsion was consistently observed with the lethal dose of  $\beta$ -aminoxyalanine, while none with CS.

## I. 緒 言

著者はサイクロセリン (以下 CS<sup>\*1</sup> と略す) 服用により  $\beta$ -アミノイソ酪酸 (以下  $\beta$ -AIB<sup>\*2</sup> と略す) および  $\beta$ -アラニンの尿中排泄量が増大することを見出した。さらにこれは CS が  $\beta$ -AIB: ピルビン酸および  $\beta$ -アラニン:  $\alpha$ -ケトグルタル酸アミノ基転移酵素を阻害するためであることを証明して、第1報で報告した。そのさい CS が直接酵素阻害をするより、むしろその代謝物質が阻害物質として働いている可能性が推定される成績を得た。すなわち、ラット体重 100g 当り CS 20mg を腹腔内投与した場合の、CS の肝内濃度は最高時ではほぼ  $6 \times 10^{-4}$  M であり、この濃度では in vitro ではほとんど阻害はみられず、しかも投与した CS がラット肝内できわめて低い濃度まで減少した投与後4時間で、 $\beta$ -AIB および  $\beta$ -アラニンは最高の濃度に達することから、阻害には CS 自身よりも CS からの代謝物質が関与しているのではないかと推定した。そこで、このような阻害物質が存在するかどうか、検討を加えたので報告する。

(\*1: D-Cycloserine, \*2: D- $\beta$ -aminoisobutylic acid)

## II. 研究 方 法

### 1. 対象および材料

CS に由来する  $\beta$ -AIB および  $\beta$ -アラニンの代謝阻害物質の分離には、体重 150g 前後のラットを使用した。毒性試験には、体重 20g 前後の雄の dd 系マウスを用いた。

CS は明治製薬製より得た。

$\beta$ -アミノオキシアラニン (以下  $\beta$ -AOAL と略す) は CS より Stammer の方法<sup>1)</sup> により合成した。

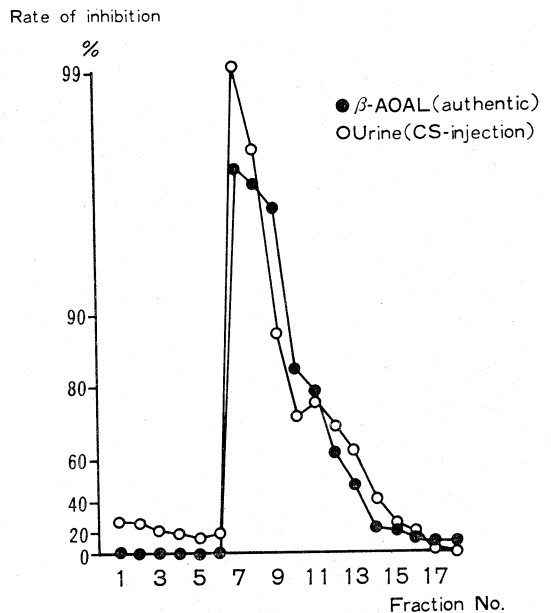
$\beta$ -AOAL とピリドキサルリン酸 (以下 PALP と略す) との結合物質は以下の方法で合成した。すなわち既知の  $\beta$ -AOAL 387mg に PALP 750mg を加え、水に溶かし、 $2 \times 20$  cm カラムのアンバーライト IR-120 ビリジン型に通し、水洗後ビリジン: 酢酸: 水 (2: 8: 190) の緩衝液 245ml で溶出した。溶出液を減圧乾固し、残渣を最小量の水に加温溶解し、これを冷却することにより、710mg の結晶をえた。元素分析の結果、 $C_{11}H_{16}N_3O_8 \cdot H_2O$  (測定値 C: 36.34, H: 5.20, N: 11.15, P: 8.45。計算値 C: 36.18, H: 4.97, N: 11.51, P: 8.48) であることを知った。

$\beta$ -AIB: ピルビン酸および  $\beta$ -アラニン:  $\alpha$ -ケトグルタル酸アミノ基転移酵素材料調整は第1報と同様に行つた。

$\beta$ -AOAL と  $\alpha$ -ケト酸結合物質形成酵素の調整は以下の方法で行つた。兎肝を 10 倍量の 0.01M 磷酸カリウ



Fig. 2. Ion Exchange Chromatography of  $\beta$ -AOAL and Inhibitor Substances of  $\beta$ -AIB: Pyruvate Transaminase



Chromatography was carried out on amberlite IR-120, pyridine form, with 2M pyridine

ンバーライト IR-120 H<sup>+</sup>型に通し, 十分水洗ののち, 1 M ピリジン 300 ml で溶出, 溶出液を減圧乾固した。この残渣を水 30 ml に溶かし, pH 3.5 とし 3×27 cm カラムのアンバーライト IR-120, ピリジン型に通し, 水洗後 1M ピリジンで分画溶出し, 溶出液 40 ml より 82 ml までの分画を減圧乾固した。その残渣を水 10 ml で溶かし, ピリジン: 酢酸: 水 (3: 7: 190) の緩衝液で平衡化した 2×30 cm カラムのアンバーライト IR-120 に通し, ピリジン: 酢酸: 水 (4: 6: 190) 100 ml で溶出, 溶出液を減圧乾固した。その残渣を水 5 ml で溶かし, ピリジン: 酢酸: 水 (1: 9: 190) の緩衝液で平衡化した 2×18 cm カラムの Dowex 50×2, 100~200 メッシュに通し, ピリジン: 酢酸: 水 (3: 7: 190) で分画溶出した。溶出液 77 ml より 132 ml までの分画を減圧乾固した。

#### d. 尿より分離した阻害物質の同定

i) メチルエチルケトン: ピリジン: 水 (20: 5: 8) を用いた濾紙クロマトグラフィー, および pH 3.4 の緩衝液で 3 kV, 25 分間泳動した高圧濾紙電気泳動法において,  $\beta$ -AOAL と尿よりの分離物質の移動距離は一致した。

ii) 尿よりの分離物質を 2×20 cm カラムのアンバーライト IR-120, ピリジン型に通し, 分画し, 各分画の酵素活性阻害のパターンを得たが,  $\beta$ -AOAL を同様に 2×20 cm カラムのアンバーライト IR-120, ピリジン型

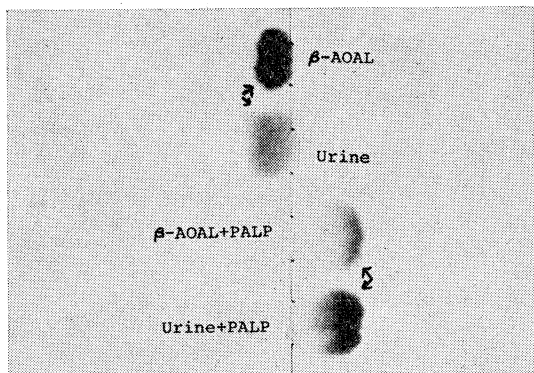


Photo. High voltage paperelectrophoresis.

に通し, 2M ピリジンで 5 ml ずつ分画溶出し, 各分画より 1 ml とり減圧乾固し, うち 0.1 ml を用いて  $\beta$ -AIB: ピルビン酸アミノ基転移酵素活性測定を行うと,  $\beta$ -AOAL と尿よりの分離物質の阻害のパターンは一致した。(Fig. 2)

#### e. 阻害物質の PALP との誘導体の精製

以上より阻害物質が  $\beta$ -AOAL と同定されたが,  $\beta$ -AOAL が不安定であり, 十分な精製が困難であつたので, あらかじめ PALP と結合せしめたのち精製し, 同定を確実とした。結合物質の精製は, 蛍光, 濾紙クロマトグラフィーおよび高圧濾紙電気泳動法でその位置を確認しながら進めた。すなわち, 体重 100 g 当り CS 50 mg (計 190 mg) を腹腔内に投与したラットの尿 48 時間分を集め, 1.5×8 cm カラムのアンバーライト IR-120 H<sup>+</sup>型に通し, 十分水洗ののち, 1M ピリジン 120 ml で溶出, 溶出液を減圧乾固した。その残渣を水 10 ml に溶かし, pH 6 とし, 1×8 cm カラムの Dowex 1×10, 酢酸型に通した。漏出液および 30 ml の水洗液を集め, これに PALP 50 mg を加え減圧乾固した。残渣を水 5 ml に溶かし, Dowex 1×10, 酢酸型に通し, 1M 酢酸 300 ml で溶出, 溶出液を減圧乾固した。その残渣を水 5 ml に溶かし, ピリジン: 酢酸: 水 (0.5: 9.5: 190) の緩衝液で平衡化した 2×20 cm カラムのアンバーライト IR-120 に通し, ピリジン: 酢酸: 水 (2: 8: 190) で分画溶出した。15 ml から 50 ml までの溶出液を減圧乾固した。

#### f. 尿よりの酵素阻害物質と PALP との誘導体の同定

i)  $\beta$ -AOAL と尿よりの分離物質のそれぞれに PALP を結合させた物質は, 両者濾紙クロマトグラフィーおよび高圧濾紙電気泳動法において移動距離の一致をみた。(Photo.)

ii) PALP, および  $\beta$ -AOAL と PALP の結合物質の紫外線吸収スペクトルを測定すると,  $\beta$ -AOAL の量とともに PALP の 390 m $\mu$  のピークが次第に短波長側に移動していることを知つたが, このことは PALP と  $\beta$ -

Fig. 3. Shift of Absorption of PALP by  $\beta$ -AOAL  
(PALP  $1.6 \times 10^{-4}$  M +  $\beta$ -AOAL)

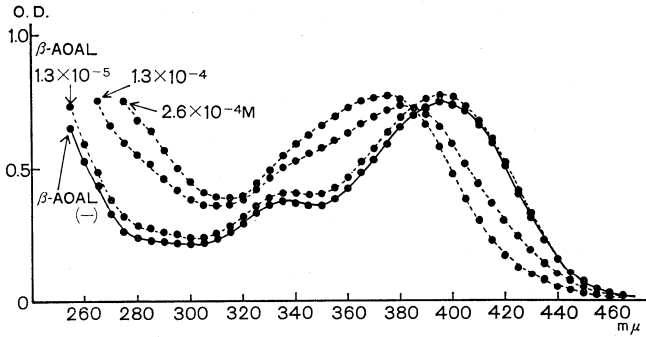
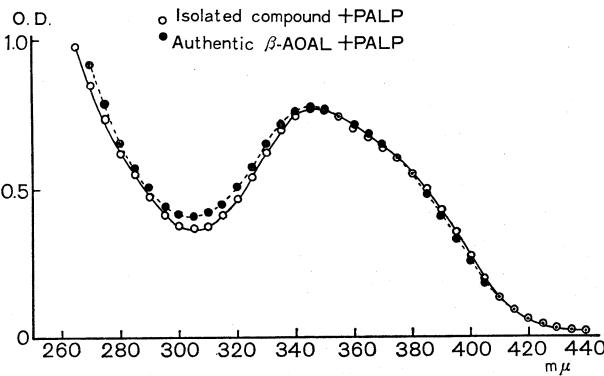


Fig. 4. Absorption Spectra of Isolated Compound and  $\beta$ -AOAL Bound with PALP



AOAL が PALP のアルデヒドグループと結合していることを示している。(Fig. 3)

そこで  $\beta$ -AOAL および尿よりの分離物質と、PALP との結合物質の紫外線吸収スペクトルを測定すると、両者は一致した。(Fig. 4)

以上尿よりの阻害物質および PALP と結合させた物質とも既知のもの、イオン交換クロマトグラフィー、濾紙クロマトグラフィー、高圧濾紙電気泳動法、紫外線吸収スペクトルなどに一致をみたことから酵素阻害物質は  $\beta$ -AOAL と同定した。

Table 1. Effect of  $\beta$ -AOAL on Enzyme Activity

Final concentration of $\beta$ -AOAL (M)	% inhibition ( $\beta$ -AIB transaminase)
$1/6 \times 10^{-6}$	13
$1/6 \times 10^{-5}$	66
$1/6 \times 10^{-4}$	94
$1/6 \times 10^{-3}$	98

Final concentration of $\beta$ -AOAL (M)	% inhibition ( $\beta$ -alanine transaminase)
$1/7 \times 10^{-5}$	63
$1/7 \times 10^{-4}$	93
$1/7 \times 10^{-3}$	99

g. 試験管内での  $\beta$ -AOAL の酵素活性阻害および PALP による酵素活性の回復

$\beta$ -AIB: ピルビン酸アミノ基転移酵素活性測定で、 $\beta$ -AOAL を加え阻害を測定すると、 $\beta$ -AOAL 最終濃度  $1/6 \times 10^{-5}$  M で 66%,  $1/6 \times 10^{-4}$  M で 94% と CS に比べ約 1,000 倍の強い阻害を示した。(Table 1)

$\beta$ -アラニン:  $\alpha$ -ケトグルタル酸アミノ基転移酵素活性測定では、 $\beta$ -AOAL 最終濃度  $1/7 \times 10^{-5}$  M で 63%,  $1/7 \times 10^{-4}$  M で 93% の阻害を示した。(Table 1)

また  $\beta$ -AOAL による阻害は PALP 添加によつて観察されなくなった。(Table 2)

## 2. $\beta$ -AOAL と $\alpha$ -ケト酸との結合物質

著者はラット尿中において CS から形成される酵素阻害物質の検出のさい、酸性分画にも阻害のある成績を得た。生体内代謝については検索は行わなかったが、この物質と考えられるものが、CS および  $\beta$ -AOAL の  $\beta$ -アラニン:  $\alpha$ -ケトグルタル酸アミノ基転移酵素活性阻害を試験管内で測定したとき、高圧濾紙電気泳動法上、グルタミン酸生成以外に、陽極側に未知のニンヒドリン陽性物質として生成されることを見つけた。

そこで、この未知物質について検索を行つた。

### a. $\beta$ -AOAL と $\alpha$ -ケト酸の酵素的結合

酵素材料 0.2 ml,  $\beta$ -AOAL 1 mc mole, オキサロ酢酸, ピルビン酸,  $\alpha$ -ケトグルタル酸またはグリオキサール酸を pH 7.5 とし, うち一種ずつの 10 mc mole に 0.2 M 硼酸: 硼酸钠リウム緩衝液を加え, 反応総量を 0.6 ml とし, 37°C で 1 時間インキュベートした。10% トリクロール酢酸 0.5 ml を加え, 反応をとめ, 遠沈後上清を 1×2 cm カラムのアンバーライト IR-120, H<sup>+</sup> 型, 100~200 メッシュに通し, 水洗後 1M ピリジン 5 ml で溶出した。溶出液を減圧乾固したのち, 残渣を 0.1 ml の水に溶かし, うち 10 mcl を高圧濾紙電気泳動法で展開した。すなわち東洋濾紙 No. 51 を用いて, ピリジン: 酢酸: 水 (1:10:189) pH 3.4 の緩衝液で,

Table 2. Recovery of  $\beta$ -AOAL Inhibition of  $\beta$ -AIB Transaminase by the Addition of PALP

Final concentration		% inhibition ( $\beta$ -AIB transaminase)
$\beta$ -AOAL (M)	PALP (M)	
$1.3 \times 10^{-5}$	$3.4 \times 10^{-5}$	0
$2.6 \times 10^{-5}$	$3.4 \times 10^{-5}$	4
$3.9 \times 10^{-5}$	$3.4 \times 10^{-5}$	89
$5.2 \times 10^{-5}$	$3.4 \times 10^{-5}$	96

3 kV, 20 分間泳動した。濾紙を乾燥後, ニンヒドリンで発色させると, 陽極側にそれぞれの  $\alpha$ -ケト酸と結合した未知物質が検出された。上記反応のうち, 酵素材料を除くか, 酵素を 100°C に加熱すると未知物質は全く生成されず,  $\alpha$ -ケト酸と  $\beta$ -AOAL との結合は酵素によって触媒されたことが明らかとなった。

b. 未知物質の精製

グリオキサール酸を用いて未知物質の結晶化を試みた。酵素材料 10 ml,  $\beta$ -AOAL 500 mc mole, グリオキサール酸 2 m mole (重炭酸カリで pH 7.5 に調整) に 0.2 M 硼酸-硼酸ナトリウム緩衝液を加え, 反応総量は 20 ml とし, 37°C で1時間インキュベートした。10% トリクロル酢酸 15 ml で反応をとめ, 遠沈後上清を 2×10 cm カラムのアンバーライト IR-120 H<sup>+</sup> 型に通し, 水洗後 1M ピリジン 50 ml で溶出した。溶出液を2回減圧乾固ののち, 残渣を少量の水に加温溶解し, 室温にて冷却後, 純エタノール 10 ml およびエーテル 5 ml を加え, 冷却し, 結晶 24 mg を得た。

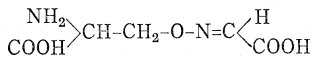
c. 未知物質の同定

i) 元素分析 C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

測定値 C: 33.83%, H: 4.34%  
 N: 15.72%, O: 43.19%  
 計算値 C: 32.94%, H: 4.42%  
 N: 15.37%, O: 43.89%

ii) 紫外線吸収

磷酸カリウム緩衝液 (pH 7.5) に溶解し, 紫外線吸収スペクトルを測定すると, 210 m $\mu$  で最大の吸収をみた。Shiff の塩基で結合していると考えられ, 構造式を次のように推定した。(Fig. 5)



d. 未知物質の  $\beta$ -アミノイソ酪酸: ビルビン酸アミ

Fig. 5. Absorption Spectrum of a Compound Formed from  $\beta$ -AOAL and Glyoxalic Acid

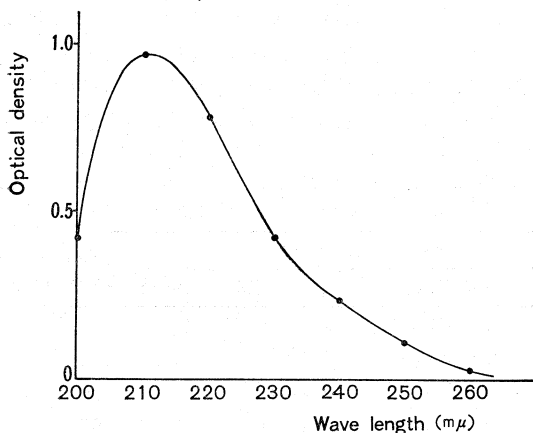


Table 3. Effect of  $\beta$ -AOAL Conjugate with Glyoxalate on  $\beta$ -AIB: Pyruvate Transaminase Activity

Final concentration (M)	% inhibition
$1.9 \times 10^{-5}$	42
$1.9 \times 10^{-3}$	97

Table 4. Acute Toxicity of  $\beta$ -AOAL

Dose $\beta$ -AOAL·HCl (mg/g)	Number of mice	Mortality(%)
4.5	10	100
4.0	10	90
3.5	10	50
3.0	10	30
2.5	10	0

LD50: 2570±16(S E)mg/kg

ノ基転移酵素阻害について

酵素活性測定は, 第1報の方法に従って行つた。最終濃度  $1.9 \times 10^{-3}$  M で 97%,  $1.9 \times 10^{-5}$  M で 42% の阻害を示した。(Table 3)

3. 毒性試験

a.  $\beta$ -AOAL について

体重 20g 前後の dd 系雄マウスの腹腔内に投与して毒性試験を試みた。 $\beta$ -AOAL を投与して死亡したマウスは, 投与後数分して運動を停止し, うずくまり, 5~20 分後に挙尾運動, 伸展運動から全身痙攣を起して死亡した。各群 10 匹のマウス5群に, それぞれの濃度の  $\beta$ -AOAL を投与すると,  $\beta$ -AOAL·HCl として 4.5 mg/g ラットで全例死亡, 2.5 mg/g ラットでは死亡例はなかつた。Van der Waerden 法により LD<sub>50</sub> 値を求めると  $\beta$ -AOAL として LD<sub>50</sub>=2570±16 mg/kg であつた。(Table 4)

b.  $\beta$ -AOAL と PALP の結合物質について

$\beta$ -AOAL と PALP の結合物質を精製したが, これを用いて 1,930 mg/kg をマウスの腹腔内に投与したが, 6 匹中3匹死亡, 1,426 mg/kg 投与で6匹中1匹死亡した。死亡した例は, 投与後 5~10 分後に運動停止し, 1例は大痙攣ののち死亡, 他の3例はごくわずかの痙攣ののち, 15~70 分後に死亡した。

IV. 考案

Hanngren<sup>2)</sup> は, <sup>3</sup>H-CS を用いてマウスの生体内分布を調べたが, そのさい肝および尿に CS からの代謝物質があることを報告した。しかしこれらの物質については全く検索しなかつた。著者は CS から形成される  $\beta$ -AIB: ビルビン酸および  $\beta$ -アラニン:  $\alpha$ -ケトグルタル酸アミノ基転移酵素活性阻害物質について知見を得た。すなわち  $\beta$ -AOAL は CS から体内で形成されることおよびこの物質が  $\beta$ -AIB: ビルビン酸および  $\beta$ -アラニン:

$\alpha$ -ケトグルタル酸アミノ基転移酵素を強く阻害することを明らかにした。これまで Karpeiski<sup>3)</sup>によりグルタミン酸：アスパラギン酸アミノ基転移酵素を  $\beta$ -AOAL は  $2 \times 10^{-5} M$  で 50% 阻害することが報告されているが、この阻害は弱い。実際、第1報で CS を注射したラットで6時間後には軽度の GOT, GPT の活性低下を認めたのみであつたが、このとき同時に測定した  $\beta$ -AIB：ピルビン酸および  $\beta$ -アラニン： $\alpha$ -ケトグルタル酸アミノ基転移酵素活性は著明に阻害されていた。

次に著者は、 $\beta$ -AOAL と種々のケト酸が結合して形成される物質が、 $\beta$ -AIB：ピルビン酸アミノ基転移酵素活性を、 $\beta$ -AOAL と CS のほぼ中間の強さで阻害することを知つた。CS 投与による  $\beta$ -AIB：ピルビン酸アミノ基転移酵素阻害は、CS,  $\beta$ -AOAL 以外に  $\beta$ -AOAL が種々のケト酸と生体内でも結合して阻害を行つていると考えられる。

$\beta$ -AOAL とケト酸の結合は Schiff 塩基の形成によると思われるが、これが酵素的に行われることが明らかとなつた。普通 Schiff 塩基の形成は非酵素的に行われるが、この形成に酵素が関与することは興味深い。

CS からもこの物質が形成されるが、CS から  $\beta$ -AOAL を経て形成されると考えられ、 $\beta$ -AOAL が CS から形成されることの傍証となりうる。

$\beta$ -AOAL は CS の 1,000 倍の強い酵素阻害をすることから、マウスの腹腔内注射により毒性試験を試みたが、LD<sub>50</sub> 値については CS (LD<sub>50</sub> = 4,300 ± 353 mg/kg<sup>4)</sup>) よりやや毒性が高いことを知つた。さらに CS 注射ではマウスには痙攣発作はみられなかつたが、 $\beta$ -AOAL の注射で死亡したマウスはほとんど全例に全身痙攣がみられたことは、CS の重篤な副作用が痙攣であることから興味深い。

さらに  $\beta$ -AOAL と PALP の結合により酵素阻害が回復することから、両者の結合物質を結晶化し、これを

用いて毒性試験を試みたが、致死量の著明な低下はみられなかつた。

## V. 結 論

1. CS より  $\beta$ -AOAL が代謝されることを実験的に見出した。
2.  $\beta$ -AOAL は、 $\beta$ -AIB：ピルビン酸および  $\beta$ -アラニン： $\alpha$ -ケトグルタル酸アミノ基転移酵素活性を、CS の約 1/1,000 の濃度で阻害する。
3.  $\beta$ -AOAL とケト酸は酵素的に Schiff 塩基を形成する。この塩基による  $\beta$ -AIB：ピルビン酸アミノ基転移酵素活性阻害は、CS より強いが、 $\beta$ -AOAL よりは弱い。

稿を終るに当たり、ご指導、ご校閲をいただいた曲直部寿夫教授、高次神経研究施設佐野勇教授ならびに柿本泰男助教授、第1外科正岡昭講師、脳神経外科魚住徹講師に深く感謝いたします。また研究にご協力いただいた大阪府立羽曳野病院山本和男院長はじめ諸先生方、高次神経研究施設の諸先生方、第1外科高尾哲人博士はじめ教室員の各位に感謝いたします。

なお、本論文の一部は第46回日本結核病学会において発表した。

## 文 献

- 1) Stammer, C. H. : J. Org. Chem., 27 : 2957, 1962.
- 2) Hangren, H., Hansson, E. and Ullberg, S. : Antibiot. Chemoth., 12 : 46, 1962.
- 3) Karpeisky, M. Ya., Breussor, Yu. N., Khomotov, R. M., Severin, E. S. and Polyanovsky, O. L. : Biokhimiya, 28 : 345, 1963.
- 4) Spencer, J. N. and Payne, H. G. : Antibioth. Chemoth., 6 : 708, 1956.