論文特集「フッ素の化学とその応用」

(日本化学会誌, 1985, (10), p.2001~2009)

© 1985 The Chemical Society of Japan

6''-デオキシ-6''-フルオロカナマイシンA, 6''-デオキシ-6''-フルオロアミカシン および1-N-[(R)-および(RS)-3- アミノ-2-フルオロプロパノイル] カナマイシンAの合成

(1985年4月1日受理)

高木 泰・土屋 務*・梅沢純夫

フッ素が導入されたアミノ配糖体抗生物質の合成の一環として表題化合物を合成した。6''-デオキシ-6''-フルオロカナマイシンAと 6''-デオキシ-6''-フルオロアミカシンはそれぞれ、アミノ基をベンジルオキシカルボニル基で保護したカナマイシンAおよびアミカシンに DAST 試薬を反応させて合成した。表題化合物の最後の2物質は保護された3-アミノ-2-フルオロプロピオン酸の活性エステルを遊離の1-位アミノ基をもつカナマイシンA誘導体〔13〕に縮合させて合成した。目的物質の構造は NMR スペクトルにより確認したが二次元 NMR スペクトルが構造決定に有効であること、またとくにフッ素の存在が解析に有用であることが示された。

1 緒 言

アミノ配糖体抗生物質を部分的に化学修飾し、原物質より抗菌力(とくに耐性菌に対しての)を増大した例はジベカシン¹⁾、アミカシン²⁾などかなりの数が知られている。しかしその主たる手法は細菌により修飾される抗生物質のヒドロキシル基の除去^{3,4)}、すなわちデオキシ化と(S)-4-アミノ-2-ヒドロキシ酪酸の結合²⁾である。著者らは各種のアミノ配糖体抗生物質のある特定の位置のヒドロキシル基をフッ素で置換したさいに原抗生物質の抗菌力、その他の属性(たとえば毒性)におよぼす変化について最近研究中である。ヒドロキシル基をフッ素で置換した場合の利点についてはおおよそつぎのようなことが考えられる。1) ある特定の位置のヒドロキシル基をリン酸化(またはアデニル化)する酵素をもつ細菌に対してはそのヒドロキシル基をフッ素で置換した誘導体は同位置のデオキシ化誘導体と似て非なる効果があるであろう。すなわち C-F 結合の空間的広がり(は)は C-H と C-OH の広がり(は)の中間にあるので、フッ素を結合させることにより原物質にくらべその部分がかさ高くなることはない(かさ高くなることはし

ばしば抗菌活性消失の原因となる)。またフッ素は電気陰性度のもっとも大きい原子であって、これは同様に陰性度が大きくてHをもたない仮定的な一価の酸素基(-O;-O⁻でない)になぞらえることもでき、この意味からいえばその誘導体の性質はデオキシ誘導体よりもヒドロキシル基をもつ原抗生物質により近いといえるであろう。2) 前に述べたようにフッ素は最大の電気陰性度⁵⁾をもつから、周辺の結合から電子を引きつけ、そのため隣接部位の電子密度を減少させることが予想される。たとえばあるアミノ基のα-またはβ-位にフッ素を導入すると、そのアミノ基の塩基性は低下し、もしそのアミノ基の塩基度が毒性と関連があるならば、その抗生物質の毒性は低下することが期待される。3-fluoro-3-demethoxy-sporaricin A⁶⁾はこのよい例といえよう。

本報では 6''-deoxy-6''-fluorokanamycin A〔3〕, 6''-deoxy-6''-fluoroamikacin〔6〕および 1-N-[(R)-および(RS)-3-amino-2-fluoropropanoyl]kanamycin A〔15〕〔15r〕の合成について述べる。なお〔3〕は既知物質⁷⁾であるが、合成法が異なる。なおフッ素の導入が核磁気共鳴スペクトルに顕著な特長を与え、構造解析を容易にしたので、この点についてはやや詳細に述べることにした。

生物有機化学研究所, 211 川崎市中原区井田

- 1) H. Umezawa, S. Umezawa, T. Tsuchiya, Y. Okazaki, *J. Antibiot.*, **24**, 485(1971).
- 2) H. Kawaguchi, T. Naito, S. Nakagawa, K. Fujisawa, *ibid.*, **25**, 695(1972).
- 3) S. Umezawa, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **30**, 111(1974).
- 4) H. Umezawa, *ibid.*, **30**, 183(1974).

- 5) "Lange's Handbook of Chemistry," ed by J. A. Dean, p. 3-11, 1979, 12th edition (1979).
- 6) T. Tsuchiya, T. Torii, Y. Suzuki, S. Umezawa, *Carbohydr. Res.*, **116**, 277(1983).
- 7) R. Albert, K. Dax, A. E. Stütz, *Tetrahedron Lett.*, **1983**, 1763.

Fig. 1 250 MHz ^1H -shift-correlated 2-D NMR spectrum of [6] in 20% ND_3 in D_2O

The figures attached in some of the cross peaks are the proton numbers coupled

The peaks indicated by * originate from the carbonate salt of [6]

2 結果および考察

Albert ら⁷⁾は 6''-deoxy-6''-fluorokanamycin A [3] の合成を多段階の行程を行なっているが、著者らはカナマイシン A から容易に得られる 1, 3, 6', 3''-tetrakis(*N*-benzyloxycarbonyl)kanamycin A⁸⁾ [1] に直接 DAST 試薬 (Et_2NSf_3)⁹⁾ を作用せしめて合成した。すなわち -40°C のジクロロメタン中 DAST を 10 モル当量作用させ、反応後ただちに酸化カルシウムを加えて中和し、粗反応混合物を得た。これを精製することなく、液体アンモニア中、ナトリウムで脱保護反応を行ない、精製後 [3] を収率 28% で得た。本実験により DAST は第一級ヒドロキシル基をかなり選択的にフッ素置換させることが判明した。フッ素原子が 6''-位に導入されたことは ^1H -および ^{13}C -NMR スペクトルにより確認した。

つぎに上記の手法をアミカシン²⁾に応用した。アミノ基をベンジロキシンカルボニル基で保護した誘導体 [4]¹⁰⁾は第一級ヒド

ロキシル基 1 個と第二級ヒドロキシル基 7 個を有しているが、[4] をフッ素化後脱保護し精製したところ、目的物の 6''-deoxy-6''-fluoroamikacin [6] を収率 14% で得ることができた。

本物質 [6] の ^1H -シフト相関二次元 NMR スペクトル (COSY) を図 1 に示した。そのプロトンシグナルの帰属はすでに帰属されているシグナルから cross ピークをたどってかなりの程度行なうことができた。しかし cross ピークが混み合っているところでは帰属不可能のところもあり、また不正確なところもあった。そこで別に本物質 [6] の ^{13}C - ^1H -シフト相関二次元 NMR スペクトルを測定した (図 2)。アミカシンの ^{13}C -スペクトルの各シグナルの帰属はすでになされているので (表 1 参照) これと [6] との比較により [6] の ^{13}C -シグナルの帰属は大部分行なうことができた。このさい上述の図 2 の相関図を利用すれば ^1H -の不確実なピークは確実な ^{13}C -のピークと、また不確実な ^{13}C -のピークは確実な ^1H -のピークと関連づけられるので、 ^1H -, ^{13}C -相補ってシグナルの帰属は完成した。さらにこれらの帰属を容易にしたのが 6''-F の存在であった。大ざっぱにいうと $^2J_{\text{F,H}}$ の値は 50 Hz 程度、 $^1J_{\text{C,F}}$ は 150 Hz 以上の大きい値をもち、さらに $^3J_{\text{F,H}}$ も構造によってはかなり大きい値をもつことが知られており、(0~50 Hz)、また $J_{\text{C,F}}$ はとくに遠隔までスピンスピン結合が観測されるので ($^2J_{\text{CCF}}$, $^3J_{\text{CCCF}}$, $^4J_{\text{CCCCF}}$ など)、フッ素が結合している近傍の ^{13}C -シグナルは 2 本に分裂し (プロトンブロード

8) T. Miyake, T. Tsuchiya, S. Umezawa, H. Umezawa, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **50**, 2362(1977).

9) L. N. Markovskii, V. E. Pashinnik, A. V. Kirsanov, *Synthesis*, **1973**, 787; W. J. Middleton, *J. Org. Chem.*, **40**, 575(1975).

10) Newly prepared.

Fig. 2 ^{13}C - ^1H -shift-correlated 2-D NMR spectrum of [6] in 20% ND_3 in D_2O

バンドデカップリング下で) 構造決定を容易にする。図1および2を参照されたい。さらに ^{19}F -に関して特長のあることはたとえば図2で ^{19}F -により分裂した ^{13}C -(6'') の2本のシグナルのうち高磁場(または低磁場)のものは、H-6'' の二つのプロトン(H-6''a および H-6''b) のいずれの場合でも低磁場(または高磁場)のシグナルとのみカップリングしていることである。このことは $^2J_{\text{F,H-6''a}}$ (または $^2J_{\text{F,H-6''b}}$) と $^1J_{\text{F,C-6''}}$ が異符号であることを示しており¹¹⁾, $^1J_{\text{F,C}}$ は負であることが知られているので¹²⁾ $^2J_{\text{F,H-6''}}$ は正であると結論される。

つぎにアミカシンの1-N-側鎖の代りに3-amino-2-fluoropropanoyl 基を同位置に導入した化合物 [15] および [15r] を合成した。上記側鎖になるべき物質は、(S)-3-benzyloxycarbonyl-amino-2-hydroxypropanoic acid¹³⁾ [7] およびそのラセミ体¹³⁾ [7r] を出発物質としてこれらをベンジルエステル化し([8] および [8r] の形成) DAST 試薬と反応させてフッ素を2-位に導入(反転が起きる)し([9] および [9r]) ベンジル基とベンジロキシカルボニル基を除去後([10] および [10r]) アミノ基をふたたびベンジロキシカルボニル化し([11] および [11r])、さらにそれぞれをスクシニミド活性エステル化

([12] および [12r]) して合成した。

[15] および [15r] の合成は、[12] または [12r] を 3,6'-bis(N-benzyloxycarbonyl)-3''-N-(trifluoroacetyl)kanamycin A¹⁴⁾ [13] と既報の方法²⁾にしたがい結合し、得られた [14] および [14r] をアンモニア水で脱トリフルオロアセチル化後接触還元して脱ベンジロキシカルボニル化を行なって完成した。

得られた [15] の ^{13}C - ^1H -シフト相関二次元 NMR スペクトルを図3に示した。[15r] が [15] とそのジアステロ異性体とのほぼ等量の混合物であることは合成経路から明白であるが、[15] と [15r] の ^1H -NMR スペクトルの比較からは両者がほとんど同一のシグナルパターンを示すため確認できなかった。しかし [15] と [15r] の ^{13}C -NMR スペクトルを比較すると [15r] が混合物であることが明白であった(表1参照)。しかしそのことをもっとも明白に示していたのは ^{19}F -NMR スペクトルである(図4)。これにより [15] およびそのジアステロ異性体はほぼ同一の $^2J_{\text{F,H}}$ および $^3J_{\text{F,H}}$ 値を有し [15r] はそれらのほぼ3:2の混合物であることが判明した。

6''-deoxy-6''-fluorokanamycin A [3] の抗菌スペクトルは Albert ら⁷⁾の報告と同じくほぼカナマイシン A と同一であったが 6''-deoxy-6''-fluoroamikacin [6] はアミカシンよりやや劣った。また [15] および [15r] はアミカシンにくらべいちじるしく抗力力が劣っていたが、これは 3'''-位のアミノ基の塩基性が 2'''-位のフッ素により、2'''-位がヒドロキシ基の場合よりも低下したゆえかもしれない。

14) T. Tsuchiya, Y. Takagi, S. Umezawa, *Tetrahedron Lett.*, 1979, 4951.

11) L. D. Hall, J. F. Manville, *Carbohydr. Res.*, 9, 11 (1969); A. Bax, "Two-dimensional Nuclear Magnetic Resonance in Liquid", Reidel Publ. Co. (1984) p. 82-84.

12) J. B. Stothers, "C-13 NMR スペクトル, 理論と応用", 伊東 敏, 竹内敬人, 佐藤至朗, 友田修司 訳, 広川書店 (1978) p. 387.

13) T. H. Haskell, R. Rodebaugh, N. Plessas, D. Watson, R. D. Westland, *Carbohydr. Res.*, 28, 263(1973).

Table 1 The ^{13}C - chemical shifts^{a)} of 6''-deoxy-6''-fluorokanamycin A [3], 6''-deoxy-6''-fluoroamikacin [6], [15], [15 r], and amikacin (in 20% ND_3 in D_2O)

	[3]	[6]	[15]	[15 r] ^{b)}		Amikacin ^{c)}
C-1	51.9 ^{d)}	50.1	50.0	50.1	50.4	50.4
C-2	36.8	35.2	35.0	35.06 ^{d)}	35.11 ^{d)}	35.1
C-3	50.2 ^{d)}	49.5	49.6	49.6	49.5	49.5
C-4	89.3 ^{d)}	88.4	88.0		88.0	87.6
C-5	75.1	75.0	75.2	75.3	75.4	75.4
C-6	88.7 ^{d)}	81.6	82.3	82.3	81.5	80.9
C-1'	101.0*	100.6*	100.6*	100.6		100.6**
C-2'	73.0	72.6	72.7	72.7		72.6**
C-3'	74.0	73.6	73.9 ^{f)}	73.9 ^{h)}		73.6 ⁱ⁾
C-4'	72.2	71.8	71.8	71.9		71.8
C-5'	74.3	73.9	73.7 ^{f)}	73.7 ^{h)}		74.0 ⁱ⁾
C-6'	42.9	42.5	42.5	42.5		42.6
C-1''	101.3*	99.3*	99.7*	99.8	99.6	99.1**
C-2''	72.9	72.3	72.4	72.4	72.2	72.4**
C-3''	55.5	55.0	54.9	55.0	54.8	54.9
C-4''	69.5	69.1	70.2		70.2	69.9
	(d, 69.57 and 69.47, 7 Hz)	(d, 69.06 and 69.16, 6.5 Hz)				
C-5''	72.1	71.8	73.0	73.04	72.98	73.0
	(d, 72.0 and 72.3, 17 Hz)	(d, 71.7 and 71.9, 16.5 Hz)				
C-6''	83.7	83.3	61.1		61.2	60.9
	(d, 82.4 and 85.0, 167 Hz)	(d, 82.0 and 84.6, 166 Hz)				
C=O		177.4	171.3	171.4	171.3	177.3
			(d, 171.2 and 171.5, 20 Hz)	(d, 171.2 and 171.6, 20 Hz)	(d, 171.2 and 171.5, 20 Hz)	
C-2'''		70.7	93.0	93.0	92.9	70.5
			(d, 91.5 and 94.4, 184 Hz)	(d, 91.5 and 94.5, 184 Hz)	(d, 91.4 and 94.4, 184 Hz)	
C-3'''		37.1	43.4	43.4	43.1	37.3
			(d, 43.2 and 43.6, 21 Hz)	(d, 43.3 and 43.6, 21 Hz)	(d, 43.0 and 43.3, 19 Hz)	
C-4'''		37.9				38.3

a) In ppm downfield from TMS calculated as $\delta^{\text{TMS}} = \delta^{\text{dioxane}} + 67.4$ ppm.

b) The figures in the left column are the resonances supposed to be originated from [15], and the right, from its diastereoisomer.

c) This experiment was carried out by Dr. T. Miyake of our laboratory, and the resonances cited by double asterisks were confirmed by the selective proton decoupling method. The assignments for the C-1' and C-1'' were reversed with those reported¹⁵⁾.

d)~i) Figures indicated by the same character may be interconvertible.

Assignments for C-1' and C-1'' in [3], [6], and [15] were confirmed by ^{13}C - ^1H - 2-D shift-correlation method(indicated by*).

3 実 験

IR スペクトルは日立 285 赤外分光光度計を用いて測定した。比旋光度は Perkin-Elmer 241 旋光計により測定した。NMR スペクトルは FT 方式による Bruker WM-250 核磁気共鳴装置により測定した。そのうち ^1H -NMR スペクトルは 250 MHz で測定し、テトラメチルシラン ($\delta=0$) を内部標準に用いた。 ^{13}C -NMR スペクトルは 62.9 MHz で測定しジオキサン ($\delta=67.4$) を内部標準に用いた。 ^{19}F -NMR スペクトルは 235.3 MHz で測定し Freon 11 (CFCl_3 , $\phi=0$) を内部標準 (有機溶媒中) ある

いは外部標準 (重水中) に用いた。薄層クロマトグラフィー (TLC) は TLC-ガラスプレート silica gel 60 (E. Merck) を用い、呈色剤として 50% 硫酸水溶液、8% 硫酸水溶液中 2% モリブデン酸アンモニウム溶液あるいはニンヒドリンの 0.5% ピリジン溶液を用いた。カラムクロマトグラフィーには特別の記載のない場合は、Wakogel C-200 (和光純薬) を用いた。再結晶は最後に記載の溶媒を最初に記載の溶媒による溶液中に徐々に加えて行なった。

3.1 6''-Deoxy-6''-fluorokanamycin A [3]

1, 3, 6', 3''-Tetrakis(*N*-benzyloxycarbonyl) kanamycin A⁸⁾

15) S. Toda, S. Nakagawa, T. Naito, H. Kawaguchi, *Tetrahedron Lett.*, 1978, 3913.

16) R. Albert, K. Dax, A. E. Stütz, *J. Antibiot.*, 38, 275 (1985)

Fig. 3 ^{13}C - ^1H -shift-correlated 2-D NMR spectrum of [15] in 20% ND_3 in D_2O Fig. 4 A: ^{19}F -NMR spectrum of [15] in 20% ND_3 in D_2O measured at 235.3 MHz, the ϕ values (ppm) being calculated from Freon 11 (CFCl_3) B: ^{19}F -NMR spectrum of [15r]

([1], 1.02 g) を無水ジクロロメタン (30 ml) に懸濁させ, -40°C でかきまぜながら DAST (1.5 ml) を加えたのち同温度で 17 時間かきまぜた。淡黄色の均一溶液に酸化カルシウム (5.3 g) を加え室温で 15 時間かきまぜた。反応液は TLC (ベンゼン-メ

タノール=4:1) において R_f 0.51 (少量), 0.39 ([2] と思われる) および 0.31 ([1]) に点を示した。反応液に N,N -ジメチルホルムアミド (DMF)-水 (9:1) の混液 (30 ml) を加え不溶分を遠心分離により除き, さらに上述の混液で洗浄し (30 ml $\times$ 2), 抽出液を合わせてキシレンを加え共沸させながら減圧濃縮を行なった。得られたシロップを水とねりまぜ, 生じた固体を濾取, 水洗し, 乾燥して淡褐色固体 (1.05 g) を得た。この固体を無水テトラヒドロフラン (5 ml) に懸濁させたのち -50°C で液体アンモニア (約 30 ml) を加え, 淡黄色溶液を得た。この溶液にかきまぜながら金属ナトリウム (約 300 mg) を加えたのち同温度で 1.5 時間かきまぜた。濃青反応液にテトラヒドロフラン-水 (95:5, 25 ml) を加え過剰のナトリウムを分解したのち, 室温まで徐々に昇温しアンモニアを留去し, さらに減圧濃縮し, 得られた残留物に 20 ml の水を加えた。少量の不溶部を遠心分離により除去したのち水溶液を Dowex 50 WX 2 レジン (H 型, 22 ml) を用いて中和した。このレジンを含む混合物を同じレジン 20 ml をつめたカラムにつめ, 水洗後 $1\text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ アンモニア水により展開し流出したニンヒドリン陽性の部分を集め, 溶媒を留去した。残留物を Amberlite CG-50 (NH_4 型) カラムクロマトグラフィー (0 $\rightarrow$ 0.5 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ アンモニア水にて展開) により精製して無色固体 [3] (152 mg, 一炭酸塩として 28%) およびカナマイシンA (230 mg, 一炭酸塩として [1] からの回収率 42%) を得た。

[3]: $[\alpha]_D^{25} +118^\circ$ ($c=1$, 水) (文献値⁷⁾ $+122^\circ$ 。

TLC(1-プロパノール-エタノール-クロロホルム-10 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ アンモニア水=4:7:2:7): R_f 0.3 (カナマイシンA: R_f 0.2)

	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
[1]	Z	Z	Z	OH
[2]	Z	Z	Z	F
[3]	H	H	H	F
Amikacin	COCH(OH)CH ₂ CH ₂ NH ₂	H	H	OH
[4]	COCH(OH)CH ₂ CH ₂ NHZ	Z	Z	OH
[5]	COCH(OH)CH ₂ CH ₂ NHZ	Z	Z	F
[6]	COCH(OH)CH ₂ CH ₂ NH ₂	H	H	F
[13]	H	Z	COCF ₃	OH
[14], [14r]	COCHFCH ₂ NHZ	Z	COCF ₃	OH
[15], [15r]	COCHFCH ₂ NH ₂	H	H	OH

	R ¹	R ²	R ³
[7], [7r]	H	OH	Z
[8], [8r]	CH ₂ C ₆ H ₅	OH	Z
[9], [9r]	CH ₂ C ₆ H ₅	F	Z
[10], [10r]	H	F	H
[11], [11r]	H	F	Z
[12], [12r]	(CH ₂ CO) ₂ N	F	Z

¹H-NMR (20% ND₃-D₂O) δ(ppm): 1.28 (1 H, q, H-2 ax), 2.02 (1 H, dt, H-2 eq), 2.80 (1 H, dd, H-6' a), ~2.94 (2 H, H-1, 3), 3.05 (1 H, dd, H-6' b), 3.09 (1 H, t, H-3''), 3.30, 3.34 および 3.36 (それぞれ 1 H, t, H-4, 6, 4'), 3.44 (1 H, t, H-4''), 3.54 (1 H, dd, H-2''), 3.63 (1 H, dd, H-2'), 3.69 (1 H, t, H-5), 3.77 (1 H, t, H-3'), 3.80 (1 H, ddd, H-5'), 4.14 (1 H, dddd, H-5''), 4.65 (1 H, ddd, H-6'' a), 4.79 (1 H, ddd, H-6'' b), 5.11 (1 H, d, H-1'), 5.34 (1 H, d, H-1'); J_{1,2ax}=J_{2ax,2eq}=J_{2ax,3}=12.5, J_{1,2eq}=J_{2eq,3}=4, J_{3,4}=J_{4,5}=J_{5,6}=9, J_{1',2'}=3.5, J_{2',3'}=10, J_{3',4'}≈10, J_{4',5'}=9.5, J_{5',6'}a=7.5, J_{5',6'}b=2.5, J_{6'a,6'b}=14, J_{1'',2''}=3.5, J_{2'',3''}=J_{3'',4''}=J_{4'',5''}=10, J_{5'',6''a}≈1.5, J_{5'',6''b}=3, J_{6''a,6''b}=10.5 Hz

¹⁹F-NMR (20% ND₃-D₂O) φ(ppm): -236.4 (dt); J_{F,H-5'}=31, J_{F,H-6'a}=J_{F,6'b}=48 Hz

分析値 C 41.79%, H 6.52%, N 10.43%,

F 3.04%

C₁₈H₃₅N₄O₁₀F·H₂CO₃ としての

計算値 C 41.60%, H 6.80%, N 10.21%,

F 3.46%

3.2 6''-Deoxy-6''-fluoroamikacin [6]

3, 6', 3'', 4'''-Tetrakis(N-benzoyloxycarbonyl)amikacin¹⁰⁾, ([4], 203 mg) を無水ジクロロメタン (6 ml) に懸濁させ, -40°C でかきまぜながら DAST (0.3 ml) を加え同温度で 17 時間かきまぜた。反応液に酸化カルシウム (1 g) を加え室温で 17 時間かきまぜたのち [3] の合成の場合と同様に処理し 6''-位にフッ素の導入された物質 [5] を含む淡褐色固体 (193 mg) を得

た。この固体を無水テトラヒドロフラン (2 ml) に懸濁させ -50 °C で液体アンモニア (約 10 ml) を加え淡褐色溶液を得た。この溶液に金属ナトリウム (約 150 mg) を加え同温度で 2 時間かきまぜた。濃青反応液にテトラヒドロフラン-水 (9:1, 6 ml) を加え脱色させたのち室温まで昇温しアンモニアを留去した。得られた溶液に水 (10 ml) を加え Dowex 50 W×2 レジン (H 型 15 ml) を用いて中和した。このレジンを含む混合物を同じレジン 5 ml をつめたカラムにつめ水洗後 1 mol·dm⁻³ アンモニア水により展開しニンヒドリン陽性の部分を集め、溶媒を留去した。残留物を Amberlite CG-50 (NH₄ 型) カラムクロマトグラフィー (0→1 mol·dm⁻³ アンモニア水) により精製し少量の不純物を含む無色固体 [6] (19 mg) およびアミカシン (19 mg, 一炭酸塩として [4] からの回収率 16%) を得た。前者の固体をさらに CM-Sephadex C-25 (NH₄ 型) カラムクロマトグラフィー (0→0.5 mol·dm⁻³ アンモニア水) により精製し無色固体 [6] (16 mg, 一炭酸塩として 14%) を得た。[α]_D²⁵+102° (c=1.7, 水)。

TLC(1-プロパノール-エタノール-クロロホルム-10 mol·dm⁻³ アンモニア水=4:7:2:7): R_f 0.1 (アミカシン: R_f 0.05)

¹H-NMR (20% ND₃-D₂O) δ(ppm): 1.44 (1 H, q, H-2 ax), 1.74 (1 H, dq, H-3''' a), 1.91 (1 H, dq, H-3''' b), 1.93 (1 H, dt, H-2 eq), 2.75 (1 H, dd, 6' a), ~2.75 (H-4'''), ~2.98 (2 H, H-3, 3''), 2.99 (1 H, dd, H-6' b), ~3.30 (3 H, H-4, 4', 4''), 3.36 (1 H, dd, H-2''), 3.58 (1 H, dd, H-2'), ~3.69 (3 H, H-5, 6, 3'), 3.76 (1 H, ddd, H-5'), ~4.0 (1 H, H-1), ~4.16 (2 H, H-5'', 2''), 4.59 (1 H, ddd, H-6'' a), 4.73 (1 H, ddd, H-6'' b),

5.04 (1 H, d, H-1''), 5.29 (1 H, d, H-1'); $J_{1,2ax} = J_{2ax,2eq} = J_{2ax,3} = 12.5$, $J_{1',2'} = 3.5$, $J_{2',3'} = 10$, $J_{4',5'} \approx 10$, $J_{5',6'a} = 7.5$, $J_{5',6'b} = 2.5$, $J_{1'',2''} = 3.5$, $J_{2'',3''} \approx 10$, $J_{5'',6''a} \approx 1.5$, $J_{5'',6''b} \approx 2.5$ Hz

^{19}F -NMR (20% $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$): ϕ (ppm) -236.6 (dt); $J_{\text{F,H-5''}} = 31$, $J_{\text{F,H-6''a}} = J_{\text{F,H-6''b}} = 48$ Hz

分析値 C 42.36%, H 6.79%, N 10.90%,

F 2.69%

$\text{C}_{22}\text{H}_{42}\text{N}_5\text{O}_{12}\text{F} \cdot \text{H}_2\text{CO}_3$ としての

計算値 C 42.52%, H 6.83%, N 10.78%,

F 2.92%

3.3 Benzyl (S)-3-Benzylloxycarbonylamino-2-hydroxypropanoate [8]

(S)-3-Benzylloxycarbonylamino-2-hydroxypropanoic acid¹³⁾ ([7], 1.02 g) を無水ベンゼン (50 ml) に懸濁させ, 無水ベンジルアルコール (4.5 ml) および *p*-トルエンスルホン酸無水和物 (172 mg) を加え, 105~110°C の油浴中にて 3 時間還流させた。このさい反応容器と還流冷却器の間にモレキュラーシーブ 4A を充填した側管付き滴下漏斗を挿入し, 反応により生成する水を除去した。反応液は TLC (クロロホルム-酢酸エチル=10:1) において R_f 0.35 (ベンジルアルコール) および 0.19 ([8]) に点を示した。反応液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および水で洗浄し乾燥 (無水硫酸ナトリウム) 後, 減圧濃縮し得られた溶液をさらに減圧蒸留し, ベンジルアルコールを留去した。得られたシロップをヘキサンとねりませ, 生じた固体をろ取り乾燥した。再結晶はベンゼン-エーテルで行ない無色結晶 [8] (1.06 g, 75%) を得た。mp 65~67°C, $[\alpha]_D^{25} -6^\circ$ ($c=2$, クロロホルム)。

IR (KBr) (cm^{-1}): 1740, 1690, 1540

^1H -NMR (CDCl_3) δ (ppm): 3.57 (3 H, H-3, 3' および OH), 4.30 (1 H, q, H-2), 5.10 (2 H, s, CH_2Ph), 5.18 (2 H, s, CH_2Ph), 5.37 (1 H, NH), 7.38 (5 H, s, Ph), 7.40 (5 H, s, Ph); $J_{2,3} = J_{2,3'} = J_{2,\text{OH}} = 4.5$ Hz

分析値 C 65.34%, H 5.69%, N 4.36%

$\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_5$ としての

計算値 C 65.64%, H 5.81%, N 4.25%

3.4 (R)-3-Benzylloxycarbonylamino-2-fluoropropanoic acid [11]

[8] (1.20 g) を無水ピリジン (3 ml) および無水ジクロロメタン (15 ml) の混液に溶解し, 0°C でかきまぜながら DAST (2.3 ml) を加えた。同温度で 10 分間放置後さらに室温で 1.5 時間放置した。反応液は TLC (クロロホルム-酢酸エチル=30:1) において R_f 0.59 (微量), 0.45 (少量), 0.30 ([9], 主生成物), 0.27 (微量), 0.12 (少量) および 0 に点を示した。反応液を氷冷した飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (80 ml) に滴下し, さらにジクロロメタン (50 ml) を加え, 30 分間室温でかきまぜた。ジクロロメタン層をとり 10% 硫酸水素カリウム水溶液, 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および水で順次洗浄し, 乾燥 (無水硫酸ナトリウム) 後減圧濃縮した。得られた濃褐色シロップをカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-酢酸エチル=50:1) により精製し淡黄色シロップ [9] (430 mg, 36%) を得た。

^{19}F -NMR (CDCl_3) ϕ (ppm): -197.0 (dt); $J_{\text{F,H-2}} = 47$, $J_{\text{F,H-3}} = J_{\text{F,H-3'}} = 23$ Hz

^1H -NMR (CDCl_3 ; ^{19}F ブロードバンドデカップル下) δ (ppm): 3.70 (2 H, m, H-3, 3'), 5.00 (1 H, t, $J_{2,3} = J_{2,3'} = 5$ Hz, H-2), 5.09 (2 H, s, CH_2Ph), ~5.13 (1 H, NH), 5.18 (2 H, ABq, CH_2Ph), 7.33 (5 H, s, Ph), 7.34 (5 H, s, Ph)

このシロップをジオキサン (9 ml), 酢酸 (3 ml), 水 (2 ml) の混液に溶解しパラジウム黒存在下常圧で 2 時間接触還元を行なった。反応液は TLC (1-ブタノール-ピリジン-水-酢酸=6:4:3:1) において R_f 0.37 (微量) および 0.25 ([10], 主生成物) に点を示した。パラジウム黒を濾別し 30% 酢酸水溶液で洗浄したのち母液と洗液を合わせ減圧濃縮し無色固体 (144 mg) を得た。この固体を水酸化ナトリウム (118 mg) を含む水溶液 (2 ml) に溶解し, 0°C でかきまぜながらクロロギ酸ベンジル (0.21 ml) を加え同温度で 4 時間かきまぜた。反応液は TLC (ベンゼン-エーテル-酢酸=3:1:1) において R_f 0.71 および R_f 0.29 ([11], 主生成物) に点を示した。反応液に水 (5 ml) を加えて希釈したのちエーテルで洗浄した。水層に希塩酸を加え pH 1 としたのち酢酸エチルで抽出し, 酢酸エチル溶液を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し, 乾燥 (無水硫酸ナトリウム) 後減圧濃縮し無色結晶 (294 mg) を得た。再結晶は酢酸エチル-ヘキサンで行ない無色結晶 [11] (259 mg, [9] からの収率 83%) を得た。mp 93~96°C, $[\alpha]_D^{25} +6^\circ$ ($c=1.7$, 酢酸エチル)。

IR (KBr) (cm^{-1}): 1760, 1690, 1540

^1H -NMR (CDCl_3) δ (ppm): 3.75 (2 H, H-3, 3'), 4.98 (1 H, dt, H-2), 5.10 (2 H, s, CH_2Ph), 5.37 (0.5 H, br s, NH?), 7.35 (5 H, s, Ph), 8.05~8.45 (1.5 H, COOH を含む?); $J_{2,3} = J_{2,3'} = 4.5$ Hz; δ 5.37 と 8.25 を中心とするピークの強度の和が 2H に等しいのは NH と COOH の間に水素結合が存在するためかも知れない。

^{19}F -NMR (CDCl_3) ϕ (ppm): -196.9 (dt); $J_{\text{F,H-2}} = 48$, $J_{\text{F,H-3}} = J_{\text{F,H-3'}} = 24$ Hz

分析値 C 54.51%, H 5.03%, N 5.63%,

F 7.55%

$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{NO}_4\text{F}$ としての

計算値 C 54.77%, H 5.02%, N 5.81%

F 7.88%

3.5 Benzyl (RS)-3-Benzylloxycarbonylamino-2-hydroxypropanoate [8 r]

(RS)-3-Benzylloxycarbonylamino-2-hydroxypropanoic acid¹³⁾ ([7 r], 795 mg) を無水ベンゼン (40 ml) に懸濁させ, 無水ベンジルアルコール (3.5 ml) および *p*-トルエンスルホン酸無水和物 (135 mg) を加え [8] の合成の場合と同様に反応を行なった。再結晶はエーテル-ヘキサンで行ない無色結晶 [8 r] (987 mg, 90%) を得た。mp 48~54°C。

分析値 C 65.60%, H 5.72%, N 4.32%

$\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_5$ としての

計算値 C 65.64%, H 5.81%, N 4.25%

3.6 (RS)-3-Benzylloxycarbonylamino-2-fluoropropanoic acid [11 r]

[8 r] (940 mg) を無水ピリジン (2.4 ml) および無水ジクロロメタン (12 ml) の混液に溶解し, 0°C でかきまぜながら DAST (1.8 ml) を加え [11] の合成の場合と同様に処理し淡黄色シロップ [9 r] (360 mg, 38%) を得た。このシロップをジオキサ

ン (7 ml), 酢酸 (2.5 ml), 水 (1.5 ml) の混液に溶解しパラジウム黒存在下で接触還元を行ない処理後無色固体 ([10 r], 116 mg) を得た。この固体を水酸化ナトリウム (92 mg) を含む水溶液 (1.5 ml) に溶解し, 0°C でかきまぜながらクロロギ酸ベンジル (0.17 ml) を加え [11] の合成の場合と同様に処理し酢酸エチル-ヘキサンから再結晶を行ない無色結晶 [11 r] (210 mg, [9 r] からの収率80%) を得た。mp 99~105°C。

分析値 C 55.03%, H 4.83%, N 5.82%

F 7.45%

$C_{11}H_{12}NO_4F$ としての

計算値 C 54.77%, H 5.02%, N 5.81%

F 7.88%

3.7 1-*N*-[(*R*)-3-Amino-2-fluoropropanoyl] kanamycin A [15]

3.7.1 [11] の活性エステル [12] の合成: [11] (169 mg) および *N*-hydroxysuccinimide (84 mg) を無水テトラヒドロフラン (2 ml) に溶解し, 0°C でかきまぜながら dicyclohexylcarbodiimide (160 mg) を加え 5°C で 15 時間かきまぜた。生じた尿素誘導体を遠心分離により除去し [12] のテトラヒドロフラン溶液を得た。

3.7.2 [15] の合成: 3,6'-Bis(*N*-benzyloxycarbonyl)-3''-*N*-(trifluoroacetyl)kanamycin A¹⁴⁾ ([13], 385 mg) をテトラヒドロフラン (4 ml) および水 (4 ml) の混液に溶解し, 炭酸ナトリウム (36 mg) を加えたのち, 室温でかきまぜながら前に述べた [12] のテトラヒドロフラン溶液を 2 回に分けて加え, 室温で 15 時間かきまぜた。反応液は TLC (クロロホルム-メタノール-20% 酢酸水=1:1:1 の下層) において R_f 0.27 (少量), 0.19 (3,6'-bis(*N*-benzyloxycarbonyl)-1-*N*-[(*R*)-3-benzyloxycarbonylamino-2-fluoropropanoyl]-3''-*N*-(trifluoroacetyl)kanamycin A [14], 主生成物), および 0.09 ([13]) に点を示した。反応液を減圧濃縮しテトラヒドロフランを留去して生じた無色沈殿を濾取し水洗し, 乾燥して無色固体 (328 mg, 粗 [14], 少量の R_f 0.27 の物質および [13] を含む) を得た。この固体をピリジン (40 ml), 15 mol·dm⁻³ アンモニア水 (11 ml) および水 (4.5 ml) の混液に溶解し 30°C で 18 時間かきまぜて脱トリフルオロアセチル化を行なった。反応液は TLC (クロロホルム-メタノール-20% 酢酸水=5:7:5 の下層) において R_f 0.66 ([14], 少量), 0.48 (主生成物), および 0.40 (少量) に点を示した。反応液を減圧濃縮し, トルエンとの共沸を行ない, 得られた固体を水洗し乾燥した。この固体をジオキサン (15 ml), 酢酸 (3 ml) および水 (2 ml) の混液に溶解しパラジウム黒存在下常圧で 1.5 時間接触還元を行なった。反応液は TLC (クロロホルム-メタノール-15 mol·dm⁻³ アンモニア水-水=5:20:6:9) において R_f 0.98 (少量), 0.36 ([15], 主生成物), 0.30 (微量), 0.26 (カナマイシン A, 微量) および 0.20 (少量) に点を示した。パラジウム黒を濾別し, 濾液を減圧濃縮した。得られた残留物に水を加え, 少量の不溶部を濾別し, 濾液を CM-Sephadex C-25 (NH₄ 型) カラムクロマトグラフィー (0→0.5 mol·dm⁻³ アンモニア水) により精製して無色固体 [15] (52 mg, 一炭酸塩として [13] からの収率 18%) を得た。さらにそのほかのフラクションから少量の R_f 0.30 の物質およびカナマイシン A を含む粗 [15] (47 mg) を得た。

[15]: $[\alpha]_D^{25} + 121^\circ$ ($c=1$, 水)。

¹H-NMR (20% ND₃-D₂O) δ (ppm): 1.42 (1 H, q, H-2_{ax}), 1.97 (1 H, dt, H-2_{eq}), 2.74 (1 H, dd, H-6'a), ~2.97 (3 H, H-3,6'b,3''), ~3.06 (2 H, H-3'''a,3'''b), ~3.29 (3 H, H-4,4',4''), 3.35 (1 H, dd, H-2''), 3.56 (1 H, dd, H-2'), ~3.7 (6 H, H-5,6,3',5',6'a,6'b), ~3.95 (1 H, H-5''), ~4.05 (1 H, H-1), 4.96 (1 H, dt, H-2'''), 5.00 (1 H, d, H-1''), 5.30 (1 H, d, H-1'); $J_{1,2ax}=J_{2ax,2eq}=J_{2ax,3}=12.5$, $J_{1,2eq}=J_{2eq,3}=4$, $J_{1',2'}=3.5$, $J_{2',3'}=10$, $J_{5',6'a}=7.5$, $J_{6'a,6'b}=14$, $J_{1'',2''}=3.5$, $J_{2'',3''}=10$, $J_{2''',3'''a}=J_{2''',3'''b}=4.5$ Hz

¹⁹F-NMR (20% ND₃-D₂O) ϕ (ppm): -196.7 (dt); $J_{F,H-2''}=48$, $J_{F,H-3'''a}=J_{F,H-3'''b}=27$ Hz

分析値 C 41.94%, H 6.91%, N 11.43%,

F 2.60%

$C_{21}H_{40}N_5O_{12}F \cdot H_2CO_3$ としての

計算値 C 41.57%, H 6.66%, N 11.02%,

F 2.99%

3.8 1-*N*-[(*R*S)-3-Amino-2-fluoropropanoyl]kanamycin A [15 r]

[3] (388 mg) をテトラヒドロフラン (4 ml) および水 (4 ml) の混液に溶解し, 炭酸水素ナトリウム (64 mg) を加え室温でかきまぜながら [11 r] の活性エステル ([12 r]; [12] の合成の場合と同様に [11 r] (169 mg), *N*-hydroxysuccinimide (88 mg) および dicyclohexyl carbodiimide (160 mg) を無水テトラヒドロフラン (2 ml) 中で反応させて得た) のテトラヒドロフラン溶液を 2 回に分けて加え, 室温で 17 時間かきまぜた。反応液は TLC (クロロホルム-メタノール-20% 酢酸水=1:1:1 の下層) において R_f 0.31 (少量), 0.29 (少量), 0.24 ([14] のジアステレオ異性体と思われる), 0.19 ([14]) および 0.09 ([13]) に点を示した。[15] の合成の場合と同様の後処理を行ない得られた無色固体 (334 mg, 粗 [14 r]) をピリジン (40 ml), 15 mol·dm⁻³ アンモニア水 (11 ml) および水 (4 ml) の混液に溶解し 30°C で 17 時間反応させトリフルオロアセチル基を脱離した。反応液は TLC (クロロホルム-メタノール-20% 酢酸水=5:7:5 の下層) において R_f 0.55, 0.48 および 0.35 (少量) に点を示した。以下 [15] の合成の場合と同様に処理し得られた固体は同様に接触還元した。反応液は TLC (クロロホルム-メタノール-15 mol·dm⁻³ アンモニア水=5:20:6:9) において R_f 0.98 (少量), 0.36 ([15 r]), 0.18 (少量) および 0.05 (微量) に点を示した。以下 [15] の場合と同様に精製し, 無色固体 [15 r] (81 mg, 一炭酸塩として [13] からの収率 28%) を得た。 $[\alpha]_D^{25} + 99^\circ$ ($c=1.7$, 水)。

¹⁹F-NMR (20% ND₃-D₂O, 図 4 参照) ϕ (ppm): -196.7, (0.6 F, dt, $J_{F,H-2'''}=48$, $J_{F,H-3'''a}=J_{F,H-3'''b}=27$ Hz, *R*-isomer), -197.4 (0.4 F, ddd, $J_{F,H-2'''}=48$, $J_{F,H-3'''}=24$ および 29 Hz, *S*-isomer)

分析値 C 41.66%, H 6.87%, N 10.86%,

F 3.16%

$C_{21}H_{40}N_5O_{12}F \cdot H_2CO_3$ としての

計算値 C 41.57%, H 6.66%, N 11.02%,

F 2.99%

4 結 論

本研究により DAST 試薬がヒドロキシル基のフッ素置換剤として便利に使用できることが改めて認識された。また第二級ヒドロキシル基が多く存在しても第一級ヒドロキシル基は比較的选择的にフッ素置換できることも判明した。フッ素を含む化合物の NMR スペクトルはフッ素が標識としての役目を果たすのでこれら

の化合物の ^1H -および ^{13}C -スペクトルは ^{19}F -スペクトルと同様、構造の解析に役立つことが例証された。

本研究の推進を鼓舞し、支持して下さった微生物化学研究所長梅沢浜夫博士に深甚なる謝意を表します。また NMR の測定をして戴いた本研究所小山美子氏に感謝いたします。

本研究の完了後に Albert ら¹⁶⁾により多段階合成行程を経た化合物〔6〕の合成が報告された。

Special Articles on Fluorine Chemistry and Its Application

Syntheses of 6''-Deoxy-6''-fluorokanamycin A, 6''-Deoxy-6''-fluoroamikacin, and 1-N-[(R)- and (RS)-3-Amino-2-fluoropropanoyl]kanamycins

Yasushi TAKAGI, Tsutomu TSUCHIYA* and Sumio UMEZAWA

*Institute of Bioorganic Chemistry; Ida, Nakahara-ku,
Kawasaki-shi 211 Japan*

As a part of our synthetic studies on fluorine-containing aminoglycoside antibiotics, title compounds have been prepared. 6''-Deoxy-6''-fluorokanamycin A and 6''-deoxy-6''-fluoroamikacin were prepared from the corresponding *N*-benzyloxycarbonyl derivatives of kanamycin A and amikacin, respectively, by use of the DAST reagent. 1-N-[(R)- and (RS)-3-Amino-2-fluoropropanoyl]kanamycins were prepared by coupling, by use of active esters, of 3-benzyloxycarbonylamino-2-fluoropropanoic acids with 3,6'-bis(*N*-benzyloxycarbonyl)-3''-N-(trifluoroacetyl)kanamycin A. To determine the structures of these compounds 2-D NMR spectroscopies were found to be useful. Since the presence of a fluorine atom causes splitting of the nearby connected ^1H - and ^{13}C -signals into a (broad) doublet, the spectra of fluorine-containing compounds facilitate the determination of the structures in the vicinity of the fluorine.

~~~~~