薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
100 (2) 206-211 (1980)

β -ラクタム系抗生物質の研究 (第 6 報¹⁾) Apalcillin Sodium の分解物の構造

戸引久雄, 半間範隆, 丹野紀彦,^{2a)} 梅田 勲^{2b)}

住友化学工業株式会社医薬事業部研究部,^{2a)} 生物科学研究所^{2b)}

Studies on β -Lactam Antibiotics. VI.¹⁾ Structure of Degradation Products of Apalcillin Sodium

HISAO TOBIKI, NORITAKA HAMMA, NORIHIKO TANNO,^{2a)} and ISAO UMEDA^{2b)}

Research Department, Pharmaceuticals Division^{2a)} and Institute for
Biological Science,^{2b)} Sumitomo Chemical Co., Ltd.

(Received August 3, 1979)

Apalcillin sodium was hydrolyzed to (3*S*,5*R*,6*R*)-[(*R*)- α -(4-hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido)benzyl]penicilloic acid (*A*₁) in aqueous sodium hydroxide solution. The optimal reaction was achieved by adding two equivalent amounts of sodium hydroxide to apalcillin sodium in water. The sodium salt of *A*₁ was converted to the (3*S*,5*S*,6*R*)-isomer (*A*₂) by heating in aqueous solution, and *A*₁ was degraded to (3*S*)-[(*R*)- α -(4-hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido)benzyl]penilloic acid (*B*) in acidic aqueous solution at 60°.

Keywords—antibiotics; semisynthetic penicillin; apalcillin sodium; degradation; β -lactamase; NMR; (3*S*,5*R* or 5*S*,6*R*)-[(*R*)- α -(4-hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido)benzyl]penicilloic acid; (3*S*)-[(*R*)- α -(4-hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido)benzyl]penilloic acid

著者らは、前報でグラム陽性菌群、および緑膿菌を含むグラム陰性菌群に強い抗菌力を有する Chart 1 に示す sodium (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(*R*)-2-(4-hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido)-2-phenylacetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylate(apalcillin sodium: PC-904) の合成法および物性を明らかにした。³⁾ また apalcillin sodium の化学的定量法として、ヨウ素滴定法⁴⁾ 高速液体クロマトグラフ法⁵⁾ を確立し、同時に apalcillin sodium に混在する分解物、(3*S*,5*R*,6*R*)-[(*R*)- α -(4-hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido)benzyl]penicilloic acid (*A*₁), その異性体である (3*S*,5*S*,6*R*)-[(*R*)- α -(4-hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido)benzyl]penicilloic acid (*A*₂) および (3*S*)-[(*R*)- α -(4-hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido)benzyl]penilloic acid (*B*) などの定量法を報告した。

今回、これら分解物を Chart 3 に示す apalcillin sodium の強制分解により単離し、それらの構造解析を行なったのでその知見を報告する。

apalcillin sodium

Chart 1

Chart 2

- 1) 第 5 報: 戸引久雄, 山田博忠, 丹野紀彦, 島見孝三, 江田靖子, 野口 浩, 小松敏昭, 中込孟也, 薬誌, 100, 133 (1980).
- 2) Location: 4-2-1, Takatsukasa, Takarazuka, Hyogo.
- 3) 戸引久雄, 山田博忠, 宮崎徹朗, 丹野紀彦, 鈴木弘幸, 島見孝三, 岡村広作, 上田伸二, 薬誌, 100, 49 (1980).
- 4) 梅田 勲, 安斉 公, 村野 敦, 野口 浩, 薬誌, 99, 717 (1979).
- 5) 梅田 勲, 村野 敦, 薬誌, 99, 765 (1979).

Apalcillin Sodium のアルカリ分解

従来、ペニシリンのアルカリ^{6a,c)}または β -lactamase⁷⁾ による分解では、 β -ラクタム環が選択的に攻撃を受けて開環し、元のペニシリンの立体配置をすべて保持した Chart 2 に示す (3*S*, 5*R*, 6*R*)-penicilloic acid が第一分解物として生成することが知られている。

そこで、著者らは、apalcillin sodium の水溶液に室温下で水酸化ナトリウム水溶液を滴下し、apalcillin の分解過程を高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法⁵⁾ で追跡した。その結果、apalcillin のピークの減少にともなって分解生成物 (A₁ 成分) が増加し、約 2 mol 量の水酸化ナトリウム水溶液を加えた時点で、apalcillin のピークが消失したことから、A₁ 成分が apalcillin の第一分解生成物であること、および分解には 2 mol 量の水酸化ナトリウムを必要とすることなどを確認した。特に従来のペニシリンと異なり 2 mol 量の水酸化ナトリウムを必要とするのは、1 mol 量が側鎖の 4-hydroxy-1,5-naphthyridine 環のヒドロキシ基に、他の 1 mol 量がラクタム環の開裂に消費されるためである。

一方、Hou らの方法^{7b)} に準じて、apalcillin sodium の水溶液に、pH 7 において *Bacillus cereus* から抽出、精製した β -lactamase を作用させた結果、HPLC 上で A₁ 成分と一致する化合物が生成した。このことから、A₁ 成分は (3*S*, 5*R*, 6*R*)-[(*R*)- α -(4-hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido)benzyl]penicilloic acid (A₁) であると推定された。

A₁ 成分の単離では、後述の如くこのものは水溶液中で比較的不安定なために、アルカリ分解反応および後処理

6) a) H.T. Clarke, J.R. Johnson, R. Robinson (eds.). "The Chemistry of Penicillin," Princeton University Press, Princeton, N.J. 1949, p. 573; b) *Idem, ibid.*, p. 565; c) J.C. Sheehan, P.A. Cruickshank, *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 3677 (1956); J.C. Sheehan, K.R. Henery-Logan, *ibid.*, **79**, 1262 (1957); *idem, ibid.*, **81**, 3089 (1959).

7) a) J.P. Hou, J.W. Poole, *J. Pharm. Sci.*, **60**, 503 (1971); b) *Idem, ibid.*, **61**, 1594 (1972).

をすばやく行なう必要があった。すなわち, apalcillin sodium 水溶液に 2 mol 量の水酸化ナトリウム水溶液を一度に加え, 室温にて 10—15 min 処理後反応液に直ちに 2-ethylhexanoic acid を加え, 前述の naphthyridine 環の 4 位 ONa を OH にもどし, アセトンで希釈することにより, 収率良く HPLC 上の A_1 に相当する化合物のナトリウム塩 A_1 (Na) を得た。 A_1 (Na) は吸湿性で, 通常 7—8% の水分を含有し, $[\alpha]_D^{20} + 102^\circ$ ($c=1$, 水) を示した。次にこの A_1 (Na) を含水メタノール中希塩酸を作用させて白色結晶を単離した。これの元素分析結果は, $C_{25}H_{25}N_5O_7S \cdot 2.5H_2O$ に一致し, A_1 を支持した。

次により安定な A_1 (Na) を使用し, 構造確認を行なった。この化合物は抗菌作用を示さないことから β -ラクタム環のないことが予想され, 事実, 赤外線吸収 (IR) スペクトル (KBr) においては, β -ラクタム環に基づく 1770 cm^{-1} 付近の吸収が消失し, 1650 cm^{-1} にアミド結合の $C=O$ に基づく吸収が確認された。核磁気共鳴 (NMR) スペクトル (D_2O) では, δ 1.30 (6H, s) に 2 位の geminal CH_3 , δ 3.28 (1H, s) に 3 位の CH, δ 4.47, 5.27 (2H, each d, $J=4.5\text{ Hz}$) に各々 6 位と 5 位の CH に基づくそれぞれのプロトンシグナルが観測された。一方, apalcillin sodium は側鎖である 2-phenylglycyl 部の α 位に不斉中心を有し, この位置での立体配置がアルカリ分解の過程で保持されているかが問題となる。そこで, α 位が L-配置である L-apalcillin sodium³⁾ を同様にアルカリ分解して L- A_1 (Na) を得た。この L- A_1 (Na) の NMR スペクトル (D_2O) では, δ 1.37, 1.63 (6H, each s) に 2 位の geminal CH_3 および δ 3.67 (1H, s) に 3 位 CH, δ 4.43, 5.17 (2H, each d, $J=7\text{ Hz}$) に各々 6 位と 5 位 CH に基づくそれぞれのプロトンシグナルが観測され, これらは単離した A_1 (Na) のそれらと明らかに相違し, 識別可能であった。したがって, この A_1 (Na) は apalcillin sodium の α 位の立体配置が保持された penicilloate であることを示した。

また前述の β -lactamase による分解反応から得られた化合物の IR および NMR スペクトルがアルカリ分解により得た A_1 (Na) に一致したことから, アルカリによる第一分解生成物は Chart 3 に示す如く天然型 (3S, 5R, 6R)-penicilloic acid の立体配置を保持した化合物 A_1 であると結論された。この結論はさらに次に記述する A_1 の水溶液中での挙動からも支持された。

A_1 成分の水溶液中での挙動

Busson ら⁸⁾ はペニシリン G の分解において, sodium (3S, 5R, 6R)-benzylpenicilloate は水溶液中で sodium (3S, 5S, 6R)-benzylpenicilloate との平衡混合物を与えることを報告している。同様に, A_1 (Na) は固体状態では, 比較的安定であるが水溶液中では不安定で, HPLC 分析⁵⁾ から第二分解生成物 (A_2 成分) に変化する易いことが確認された。この変化はまた NMR スペクトルにおいても観測されたことから, A_1 (Na) を D_2O に溶解 (10% 溶液) し, 経時的に NMR スペクトルを測定し, δ 3.3 付近の 3 位 CH のプロトンに基づくと推測されるシグナルの積分値強度比から, A_1 成分から A_2 成分への変換速度を調べた。その結果, この変化はある時点までいくと平衡に達し, それまでの時間は 25° で 40 hr, 40° で 11 hr, および 80° で 0.25 hr であることが判明した。平衡混合物の組成は $A_1:A_2=20:80$ — $15:85$ で, 後述の A_2 (Na) を同様に処理した場合にもその組成は同じであった。この変化は比旋光度の変化としても観察され, A_1 (Na) の 1% 水溶液の $[\alpha]_D^{20}$ が当初, 約 $+100^\circ$ であったものが, 平衡に達した時点では -5° まで低下した。⁹⁾

以上の水溶液中での A_1 (Na) の挙動から, A_2 成分は A_1 成分のジアステレオマーである (3S, 5S, 6R)-[(R)- α -(4-hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido)benzyl]penicilloic acid であると推定された。

A_1 と A_2 成分の平衡混合物の水溶液から A_2 成分のみを単離するためには, その水溶液に過剰の濃塩酸を加えることが必要であった。すなわち, apalcillin sodium の水溶液に水酸化ナトリウム水溶液を加え, 室温にて 10 min 処理後希塩酸にて pH 8.0—8.5 に調整し, 得られた A_1 (Na) の水溶液を熱処理して A_1 と A_2 成分の平衡混合物の水溶液を得, この溶液に濃塩酸を加え, 析出結晶を単離した。この化合物の元素分析結果は $C_{25}H_{26}ClN_5O_7S \cdot 3H_2O$ に一致し, A_2 成分の塩酸塩 [A_2 (HCl)] を支持した。

この A_2 (HCl) を水溶媒中 pH 3.0—3.5 に調整し, 析出したカルボン酸体 (A_2) を水に懸濁, 水酸化ナトリウム水溶液にて pH 8.0—8.5 にし, アセトンから結晶化することにより白色結晶の A_2 成分のナトリウム塩 [A_2 (Na)] を得た。

8) R. Busson, P.J. Claes, H. Vanderhaeghe, *J. Org. Chem.*, **41**, 2556 (1976).

9) 高野俊太郎, 吉田長作, 酒井広志, 山本芳子, 田井 賢, 保田 隆, 才川 勇, 薬誌, **97**, 1064 (1977).

この $A_2(\text{Na})$ は $[\alpha]_D^{20} -20^\circ$ ($c=1$, 水) を示し, IR スペクトル (KBr) は $A_1(\text{Na})$ にほとんど一致したが, NMR スペクトル (D_2O) においては異なり, 2 位の geminal CH_3 に基づくプロトンシグナルが δ 0.78 (3H, s) および δ 1.61 (3H, s) に 2 本に分離し, δ 3.48 (1H, s) に 3 位 CH, δ 4.97, 5.18 (2H, each d, $J=3.2$ Hz) に 各々 6 位と 5 位の CH に基づくそれぞれのプロトンシグナルが観測された. またこの $A_2(\text{Na})$ の水溶液は熱処理により A_1 と A_2 成分の平衡混合物を与えた. このことは, 単離した A_2 成分は $A_1(\text{Na})$ の水溶液中での異性化によって生成した成分と同一物であること, かつ A_1 成分のジアステレオマーであることを示した.

以上の結果と Busson ら⁸⁾ の実験事実から, $A_1(\text{Na})$ の水溶液中での異性化によって生成した第二分解生成物は Chart 3 に示す如く (3*S*, 5*S*, 6*R*)-penicilloic acid の立体配置を有する化合物 A_2 であると結論された.

A_1 成分の脱炭酸生成物

従来, ペニシリン G の分解において, (3*S*, 5*R*, 6*R*)-benzylpenicilloic acid は酸性溶液中で容易に 6 位カルボキシル基が脱炭酸し (3*S*)-benzylpenilloic acid を与えることが報告されている.¹⁰⁾

そこで A_1 を希塩酸に溶解し, 60° に加熱したところ, 約 1 mol 量の CO_2 を発生し, 30 min 後には HPLC 上⁵⁾ でほぼ完全に第三分解生成物 (B 成分) に変化した. また, A_2 を同様に処理した場合も同一の生成物 B を与えた. この反応液に水酸化ナトリウム水溶液を加えて中和し, pH 3 付近で析出した結晶をろ取し, B 成分を得た. この化合物は, mp $220-222^\circ$ (dec.), $[\alpha]_D^{20} +15^\circ$ ($c=1$, 0.5% 炭酸水素ナトリウム) を示し, 元素分析結果は $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_5\text{S} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ に一致した. この結果から, B 成分の構造は (3*S*)-[(*R*)- α -(4-hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido)benzyl]penilloic acid と推定された.

B 成分の NMR スペクトル (D_2O -DCl) では, 6 位 methine プロトンによるシグナルが消失し, 新たに methylene プロトンが確認され, さらに 2 位の geminal CH_3 のプロトンシグナルが 4 本 (δ : 1.40, 1.53, 1.63, 1.77) に, benzyl 位の CH に基づくと推測されるプロトンシグナルが δ 5.7 付近で 2 本に分かれて現れ, B 成分は 2 種の化合物 B_1 および B_2 の約 4:3 混合物であることが示唆された. そこでこの B 成分のナトリウム塩をメタノールに懸濁し, 不溶部と可溶部に分離して各々を希塩酸にてカルボン酸体 B に誘導し, これらの NMR スペクトル (D_2O -DCl) を測定した結果, B_1 と B_2 の 3 位 CH プロトンに基づくと推測される δ 4.4—4.6 付近の 2 本のプロトンシグナルの積分値強度比から, 不溶部 B の B_1/B_2 比は 4/1 に, 可溶部 B のそれは 1/3 に変化していることが確認された. この両者は共に mp $220-222^\circ$ (dec.) を示し, 元素分析結果は $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_5\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$ に一致した. $[\alpha]_D^{20}$ ($c=1$, 0.5% 炭酸水素ナトリウム) では, 前者は $+41^\circ$, 後者は -5° を示し, B 成分は (+) 異性体 B_1 と (−) 異性体 B_2 の平衡混合物であると推定された.

一方, ペニシリン G の分解において, (3*S*)-benzylpenilloic acid には 2 種のジアステレオマーが存在し, 溶液中で両者は互いに可逆的に変化することが知られている^{6b)} そこで, 前述の不溶部 B と可溶部 B をそれぞれ D_2O -DCl に溶解し, 40° で 20 hr 加熱後, その反応液の NMR スペクトルを測定した結果, 両者ともに $B_1:B_2$ = 約 4:3 に変化していることが確認された.

以上のことから, B_1 と B_2 成分のちがいは 5 位の立体配置の差と推定される. その識別法として, McMillan らの経験則が適用できる.¹¹⁾ この経験則によると, NMR スペクトルにおいて, (4*S*)-2-monosubstituted 5,5-dimethylthiazolidine-4-carboxylic acid の 4 位 CH のプロトンシグナルは, Chart 4 に示す 2*S* 体の方が 2*R* 体よりも高磁場側に観測される.

しかし後になって, dimethyl benzylpenicilloate の (5*S*, 6*R*) と (5*R*, 6*R*) 体を d_1 -クロロホルム中でそれぞれ測定した場合, この経験則に当てはまらない例が出てきた.⁸⁾ 同様に, $A_1(\text{Na})$, $A_2(\text{Na})$ を D_2O 中で測定した場合, 前述のごとく 3 位 CH のプロトンシグナルは各々 δ 3.28, 3.48 に観測され, 逆に 5*R* 体が 5*S* 体より高磁場側であった. しかし約 20% の D_2O を含む d_5 -ピリジン中でそれぞれを測定した場合,¹²⁾ 前述のシグナルは各々

Chart 4

10) M.A. Schwartz, *J. Pharm. Sci.*, **54**, 472 (1965).

11) I. McMillan, R.J. Stoodley, *Chem. Commun.*, **1968**, 11.

12) $A_1(\text{Na})$ および $A_2(\text{Na})$ は d_5 -ピリジンに溶けにくい.

δ 4.03, 3.87 に現れ, McMillan らの経験則に合致した.

McMillan らは NMR スペクトルの測定溶媒について特に限定していないが, d_5 -ピリジンを用いている. したがってこの経験則を適用する場合, 測定溶媒として d_5 -ピリジンを用いるべきであるといえる.

次に, B 成分を 20% の D_2O を含む d_5 -ピリジンあるいは D_2O 中で測定した場合, 3 位 CH のプロトンシグナルは, B_1 成分では各々 δ 4.15, 3.67 (each s) に, B_2 成分では各々 δ 3.99, 3.53 (each s) に観測され, B_2 成分が共に B_1 成分より高磁場側に位置した. したがって前述の McMillan らの実験事実から, B 成分中の B_1 および B_2 成分は各々 5R 体, 5S 体と推定出来る.

以上のように, apalcillin sodium は, 水酸化ナトリウム水溶液中では, (3S, 5R, 6R)-penicilloate [A_1 (Na)] を生成し, さらに A_1 (Na) は, 水溶液中では, (3S, 5S, 6R)-penicilloate [A_2 (Na)] に変化した. また A_1 あるいは A_2 成分は, 塩酸水溶液中で CO_2 を発生し, (3S, 5R)-penilloic acid (B_1) と (3S, 5S)-penilloic acid (B_2) との平衡混合物 (B) を与えることを確認した.

実験の部¹³⁾

Disodium (3S, 5R, 6R)-[(R)- α -(4-Hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido)benzyl]penicilloate [A_1 (Na)]

1) Apalcillin sodium 5.43 g を水 50 ml に溶解し, 2N NaOH 10 ml を一度に加え, 20—25° にて 10 min 攪拌後, 氷冷却下, 2-エチルヘキサノ酸を加えて pH 8.0—8.5 に調整, 反応液をアセトン 500 ml に注入し, 析出物をろ取, アセトンで洗浄, 粗製物を冷水 30 ml に溶解, 不溶物をろ去後アセトン 300 ml 中に注入, 析出物をろ取, アセトン洗浄, 乾燥し, 白色結晶 4.9 g を得. mp 278—283° (dec.). Anal. Calcd $C_{25}H_{23}N_5Na_2O_7S \cdot 2.5H_2O$: C, 47.77; H, 4.49; N, 11.14; H_2O , 7.17. Found: C, 47.53; H, 4.54; N, 11.12; H_2O , 7.3. IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3400 (OH, NH), 1650 (CONH). NMR (D_2O) δ : 1.30 (6H, s, 2-2 $\times$ CH₃), 3.28 (1H, s, 3-H), 4.47, 5.27 (2H, each d, $J=4.5$ Hz, 5,6-H), 5.68 (1H, s, α -H), 7.17 (1H, dd, $J=4$; 9 Hz, naphthyridine 7-H), 8.33 (2H, bs, naphthyridine 2, 6-H), 7.33—7.83 (6H, m, C₆H₅ and naphthyridine 8-H). $[\alpha]_D^{20} +102^\circ$ ($c=1$, H_2O).

2) Apalcillin sodium 50 mg を 50 ml の水に溶解, *Bacillus cereus* から抽出, 精製した β -lactamase 6000 unit/75 μ l [トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタン-HCl 緩衝液] を加え, 0.01N NaOH にて pH 7.0 に調整しながら, 約 30° にて 1 hr 攪拌, 反応液の pH を 8—8.5 に調整後凍結乾燥し, 酵素分解生成物約 60 mg を得. この化合物は IR および NMR スペクトルで前述の A_1 (Na) と一致した.

(3S, 5R, 6R)-[(R)- α -(4-Hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido)benzyl]penicilloic Acid (A_1) A_1 (Na) 1 g を水 5 ml に溶解, MeOH 20 ml を加え, 氷冷却下, 希塩酸にて pH 3—3.5 に調整, 析出物をろ取, 含水 MeOH で洗浄, 減圧乾燥し, 白色粉末 0.8 g を得. Anal. Calcd $C_{25}H_{25}N_5O_7S \cdot 2.5H_2O$: C, 51.36; H, 5.17; N, 11.98; S, 5.49; H_2O , 7.7. Found: C, 51.14; H, 5.28; N, 11.80; S, 5.40; H_2O , 7.9. IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3200—3400 (NH, OH), 1720 (COOH), 1650 (CONH). mp 218—238° (dec.), 測定毎に変化した. A_1 の結晶を 100—105° で約 10 hr 加熱すると, A_1 は完全に脱炭酸し, 後述の B_1 と B_2 の約 1:1 の混合物となる.

Disodium (3S, 5R, 6R)-[(S)- α -(4-Hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido)benzyl]penicilloate [L - A_1 (Na)]

A_1 (Na) の 1) の操作法に準じ, L-apalcillin sodium³⁾ をアルカリ分解して合成した. mp 271—273° (dec.). 水分: 7.1%. NMR (D_2O) δ : 1.37, 1.63 (6H, s, 2—2 $\times$ CH₃), 3.67 (1H, s, 3-H), 4.43 (1H, d, $J=7$ Hz, 6-H), 5.17 (1H, d, $J=7$ Hz, 5-H), 5.80 (1H, s, α -H), 7.12 (1H, dd, $J=4$; 9 Hz, naphthyridine 7-H), 8.40 (2H, bs, naphthyridine 2,6-H), 7.12—7.83 (6H, m, C₆H₅ and naphthyridine 8-H).

(3S, 5S, 6R)-[(R)- α -(4-Hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido)benzyl]penicilloic Acid Hydrochloride [A_2 (HCl)] Apalcillin sodium 5.43 g を水 50 ml に溶解, 2N NaOH 水溶液 10 ml を一度に加え, 20—25° で 10 min 攪拌, 希塩酸にて pH 8.0—8.5 に調整して A_1 (Na) 水溶液を得. この反応液を 80°, 15—20 min 加熱攪拌, 0—5° に冷却下, 濃塩酸 10—15 ml を滴下してさらに同温度にて 30 min 攪拌, 析出結晶をろ取, 水洗, P_2O_5 上で減圧乾燥し, 白色結晶 3.2 g を得. mp 212—220° (dec.). Anal. Calcd $C_{25}H_{26}ClN_5O_7S \cdot 3H_2O$: C, 47.65; H, 5.12; N, 11.12; S, 5.09; Cl, 5.63; H_2O , 8.6. Found: C, 47.80; H, 4.94; N, 11.10; S, 5.30; Cl, 5.43; H_2O , 8.7. IR ν_{max}^{NaCl} cm^{-1} : 3390, 3220 (NH, OH), 1730 (COOH), 1650 (CONH).

Disodium (3S, 5S, 6R)-[(R)- α -(4-Hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido)benzyl]penicilloate [A_2 (Na)]

A_2 (HCl) 3.15 g を水 20 ml に懸濁し, 氷冷却下, 2N NaOH を滴下して溶解 (pH 8.5 以下), 直ちに冷 MeOH 120 ml を加え, 0—5° で 2N 塩酸にて pH 3—3.5 に調整, 30 min 後析出物をろ取, 冷 MeOH 水で洗浄, P_2O_5 上で減圧乾燥し, A_2 (カルボン酸体) 2.5 g を得. mp 223—239° (dec.).

次に A_2 2.2 g を水 11 ml に懸濁し, 0—5° にて 2N NaOH を加え, pH 8.0—8.5 ですばやく溶解, 不溶物

13) 融点はすべて未補正. IR スペクトルは日本分光製 IRA-1 型で測定. NMR スペクトルは Varian T-60 を用い, chemical shifts は tetramethylsilane を内部標準とし, δ 値で表わした. Singlet は s, broad は b, broad singlet は bs, doublet は d, double doublet は dd, multiplet は m と略記した.

をろ去後、ろ液をアセトン 100—150 ml 中に注入して結晶化し、析出物をろ取。アセトンで洗浄、乾燥し、白色結晶 2.2 g を得。mp 278—282° (dec.). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3380, 3300 (OH, NH), 1650 (CONH). NMR (D₂O) δ : 0.78, 1.61 (6H, each s, 2—2×CH₃), 3.48 (1H, s, 3-H), 4.97, 5.18 (2H, each d, $J=3.2$ Hz, 5,6-H), 5.70 (1H, s, α -H), 7.23 (1H, dd, $J=4; 9$ Hz, naphthyridine 7-H), 8.38 (2H, bs, naphthyridine 2, 6-H), 7.33—7.9 (6H, m, C₆H₅ and naphthyridine 8-H). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -20^{\circ}$ ($c=1$, H₂O). 水分: 9.0%.

(3S)-[(R)- α -(4-Hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido) benzyl] penilloic Acid (B) 1) A₁ 5 g を 1N 塩酸 50 ml に溶解し、CO₂ の発生が止まるまで 60° で約 30 min 加熱後冷却し、2N NaOH を滴下して pH 3 に調整し、析出白色結晶をろ取、乾燥して 4 g を得。mp 220—222° (dec.). Anal. Calcd C₂₄H₂₅N₅O₅S·1.5 H₂O: C, 55.16; H, 5.40; N, 13.40; S, 6.14; H₂O, 5.2. Found: C, 55.04; H, 5.50; N, 13.32; S, 5.95; H₂O, 5.3. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 3200—3500 (OH, NH), 1650 (CONH). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +15^{\circ}$ ($c=1$, 0.5% NaHCO₃). NMR (D₂O-DCl): 3 位の CH プロトンに基づく積分値強度比から算出した B₁/B₂ 比は約 4/3 である。

2) B 2 g を MeOH に懸濁し、2-エチルヘキサン酸ナトリウム 1 g を加えて溶解、アセトン 200 ml を注入、結晶化、ろ過、乾燥、B のナトリウム塩 2 g を得。これを MeOH に懸濁、不溶部、およびろ液を減圧濃縮して可溶部を得、各々を水に溶解、希塩酸にて pH 3—4 に調整、析出物をろ取、2 種の B 成分を得。元素分析結果は共に C₂₄H₂₅N₅O₅S·H₂O に一致した。B₁/B₂ 比および $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ は本文参照。推測される B₁ および B₂ 異性体の NMR データを次に示す。NMR (D₂O-DCl) δ : B₁: 1.53, 1.63 (6H, each s, 2—2×CH₃), 3.95 (2H, b, 6-H), 4.40 (1H, s, 3-H), 5.2—5.5 (1H, m, 5-H), 5.72 (1H, s, α -H), 7.55 (5H, bs, C₆H₅), 8.3—9.4 (4H, m, naphthyridine 2,6,7,8-H). B₂: 1.40, 1.77 (6H, each s, 2—2×CH₃), 3.95 (2H, b, 6-H), 4.60 (1H, s, 3-H), 5.2—5.5 (1H, m, 5-H), 5.77 (1H, s, α -H), 7.55 (5H, bs, C₆H₅), 8.3—9.4 (4H, m, naphthyridine 2,6,7,8-H).

謝辞 本研究にあたり、発表の機会を与えられた住友化学工業株式会社医薬事業部副事業部長 山本久夫博士ならびに終始御指導、御助言を賜りました研究部主席研究員 中込孟也博士に深謝いたします。