薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
101 (2) 138-147 (1981)

Bactobolins, *Pseudomonas* 属細菌由来の抗腫瘍性抗生物質 (第 2 報¹⁾)

誘導体の合成と抗菌活性

宗像友彦

吉富製薬株式会社中央研究所²⁾

Bactobolins, Antitumor Antibiotics from *Pseudomonas*. II.¹⁾

Synthesis and Biological Activities of Related Compounds

TOMOHIKO MUNAKATA

Research Division, Yoshitomi Pharmaceutical Industries Ltd.,²⁾
955, Koiwai, Yoshitomi-cho, Chikugo-gun, Fukuoka

(Received August 8, 1980)

Some N-acylbactobolins (VI) were synthesized, and N-L-alanylbactobolin was identified as bactobolin B.

The product by Edman's degradation reaction on bactobolin was thought to be a key intermediate for synthetic studies, named bactoboamine which was converted to N-acyl derivatives (IX).

Antimicrobial activities of VI and IX were also discussed.

Keywords—*Pseudomonas* sp.; antimicrobial; antibiotic; MIC; bactobolin; bactobolamine; amino acids; acylation

前報¹⁾で、著者等は *Pseudomonas* 属の新菌株より抗腫瘍性抗生物質 4 種を単離し、内 2 種を bactobolin (I), N-acetylbactobolin (II) と同定²⁾すると共に、残る 2 種をそれぞれ bactobolin B (III), bactobolin C (IV) と名付け、その化学構造を解明した。

これ等の化合物は、actinobolin (V)⁴⁾ と極めて近縁の構造を有し、II を除いていずれも強い抗菌、¹⁾ 抗腫瘍活性⁵⁾を示し、医薬としての有用性が期待されたが、毒性が比較的強く、実用化については相当の検討を要すると思われる。

そこで本報では、活性の向上と毒性の低減とを期待して各種誘導体の合成を試みたのでそれ等の抗菌活性と合わせ報告する。

まず、Chart 2 に示した方法に従い I の N-アシル化を試みた結果、Table I に掲げたとき化合物を得た。

このうち、VI_a は bactobolin B (III) と融点、分子式、スペクトルデータ等が、すべて完全に一致し、両者が同一化合物であることが確認された。

つぎに、I のペプチド結合の選択的な加水分解法について検討した。

Chart 1

TABLE I. Preparation of N-Acylbactobolins (VI)

Compd.	R ¹	Salt	mp (°C)	Analytical methods ^{a)}	Synthetic methods ^{b)}
VI _a	L-COCHNH_2 CH_3	HCl	231—232(d.)	EA, PMR, MS	A
VI _b	D-COCHNH_2 C_6H_5	HCl	215—218(d.)	PMR, MS	A
VI _c	$\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$	HCl · 1/2 iso-PrOH	248—249(d.)	EA, PMR, MS	A
VI _d	L-COCHCH_2 - $\text{-OC(CH}_3)_3$	HCl · iso-PrOH · 3H ₂ O	223(d.)	EA, PMR, MS	A
VI _e	L-COCHCH_2 - -OH	HCl · iso-PrOH · 3H ₂ O	219—220(d.)	EA, PMR, MS	A
VI _f	$\text{COCH}_2\text{N(CH}_3)_2$	HCl	239—241(d.)	EA, PMR, MS	A
VI _g	$\text{COCH}_2\text{O-}$	—	175—177	PMR, MS	A
VI _h	COCH_2 -	—	155—157	PMR, MS	A
VI _i	$\text{CON(CH}_3)_2$	—	204(d.)	PMR, MS	B
VI _j		—	203—205	PMR, MS	B
VI _k	COOC_2H_5	—	136—138	PMR, MS	C
VI _l	SO_2CH_3	—	249—250(d.)	PMR, MS	D

^a) EA: elemental analysis, PMR: proton magnetic resonance spectrum, MS: mass spectrum (detection of M⁺). ^b) See Chart 2.

Penicillin, cephalosporin 類の例をみても自明なごとく、基本骨格を残して置換基部分のみを除去しそこに新しい置換基を導入することは、いわゆる半合成抗生物質を創造するための極めて効率的な手法である。

I はアルカリ性条件下では極めて不安定であり、強い酸性の条件下でも必ずしも安定ではなく、通常の加水分解条件では基本骨格自体まで分解してしまうが、Edman の方法⁶⁾ に準じて処理したところ、目的を達することができた。

Chart 3

Chart 4

TABLE II. Preparation of N-Acylbactobolamines (IX)

Compd.	R ⁴	Salt	mp (°C)	Analytical methods ^{a)}	Synthetic methods ^{b)}
IX _a	COCH ₃	—	254—255(d.)	EA, PMR, MS	E
IX _b	COCH ₂ C ₆ H ₅	—	105—109(d.)	PMR, MS	E
IX _c	CO-	—	139—140(d.)	PMR, MS	F
IX _d	CO(CH ₂) ₁₆ CH ₃	—	118—120(d.)	PMR	F
IX _e	CO-	—	153—154(d.)	PMR	F
IX _f	-COCHNH ₂	HCl·H ₂ O	220—222(d.)	EA, PMR, MS	G
IX _g	-COCHNH ₂	HCl	235(d.)	PMR, MS	G
IX _h	COCH ₂ CH ₂ NH ₂	CF ₃ COOH	145—148(d.)	PMR, MS	G
IX _i	-COCHNH ₂	HCl	192(d.)	PMR, MS	G
IX _j	-COCHNH ₂	HBr	170(d.)	PMR	G
IX _k	COCH ₂ NH ₂	CF ₃ COOH	144—147(d.)	PMR	H
IX _l	-COCHNH ₂	CF ₃ COOH	137—138(d.)	PMR	H
IX _m	-COCHNH ₂	HCl	178—180(d.)	PMR	H
IX _n	-COCHNH ₂	CF ₃ COOH	106—110(d.)	PMR	H
IX _o	L-CO-	CF ₃ COOH	244—245(d.)	PMR, MS	H
IX _p	-COCHNH ₂	HCl	210(d.)	PMR	G
IX _q	-COCHOH	—	241—244(d.)	PMR, MS	I

a) EA: elemental analysis, PMR: proton magnetic resonance spectrum, MS: mass spectrum (detection of M⁺).

b) See Chart 4.

すなわち, Chart 3 に掲げたごとく, I を phenyl isothiocyanate と反応せしめると, 高収率でチオウレア体 (VII) が生成し, これを酸と処理すると目的とするアミン (VIII) が得られる.

VIII は後述のごとく, L-アラニンと縮合せしめると I を再生し, 母体化合物の基本骨格を完全な形で保持していることが証明され, かつ, 今後の誘導体合成の重要な中間体と考えられるので, bactobolamine と命名することにする.

なお, 同様な反応が, actinobolin についても報告⁷⁾ されているが, 学会発表の簡単な抄録が入手できたのみで, 詳細は不明である.

本報では bactobolamine 誘導体のうち, N-アシル誘導体 (IX) について報告する.

TABLE III. Antibacterial Activity (MIC: µg/ml)

Organism	I	VI _a	VI _b	VI _c	VI _d	VI _e	VI _f	VI _g	VI _h	VI _i	VI _j	VI _k	VI _l
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P	0.39	>100	>100	>100	>100	100	>100	>100	100	>100	>100	50	100
<i>Staphylococcus aureus</i> 308 A-1	0.78	>100	— ^{a)}	—	—	—	—	—	—	>100	>100	25	100
<i>Staphylococcus aureus</i> 1840	0.78	>100	—	—	—	—	—	—	—	>100	>100	50	50
<i>Streptococcus pyogenes</i> E-14 ^{b)}	<0.20	50	—	—	—	—	—	—	—	>100	>100	12.5	12.5
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-8 ^{b)}	<0.20	6.25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
<i>Streptococcus viridans</i> AMERICA ^{b)}	0.78	>100	—	—	—	—	—	—	—	>100	>100	12.5	100
<i>Streptococcus faecalis</i> LS-101 ^{b)}	3.13	>100	—	—	—	—	—	—	—	>100	>100	50	100
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> TRONTO ^{b)}	<0.20	—	—	—	—	—	—	—	—	>100	>100	6.25	0.20
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	0.78	>100	—	—	—	—	—	—	—	>100	>100	100	50
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	3.13	>100	>100	>100	>100	>1000	>1000	>100	>100	>100	>100	>100	100
<i>Escherichia coli</i> O-111	1.56	>100	—	—	—	—	—	—	—	>100	>100	>100	100
<i>Escherichia coli</i> T-7	3.13	>100	—	—	—	—	—	—	—	>100	>100	>100	100
<i>Salmonella typhosa</i> Boxhill-58	6.25	>100	—	—	—	—	—	—	—	>100	>100	>100	100
<i>Shigella flexneri</i> EW-10	0.78	>100	—	—	—	—	—	—	—	>100	>100	100	100
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.78	>100	—	—	—	—	—	—	—	>100	>100	25	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i> DT	25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Proteus vulgaris</i> IFO 3988	25	>100	—	—	—	—	—	—	—	>100	>100	50	>100
<i>Proteus morganii</i> IFO 3168	>100	>100	—	—	—	—	—	—	—	>100	>100	>100	>100
<i>Proteus mirabilis</i> IFO 3849	>100	>100	—	—	—	—	—	—	—	>100	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> U-31	>100	>100	—	—	—	—	—	—	—	>100	>100	>100	>100
<i>Serratia marcescens</i> IFO 12648	>100	>100	—	—	—	—	—	—	—	>100	>100	>100	>100

a) Not tested. b) Trypto-soy agar + 10% horse blood.

TABLE IV. Antibacterial Activity (MIC: µg/ml)

Organism	VIII	IX _a	IX _b	IX _c	IX _d	IX _e	IX _f	IX _g	IX _h	IX _i	IX _j	IX _k	IX _l	IX _m	IX _n	IX _o	IX _p	IX _q
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P	100	>1000	1000	>100	>1000	>1000	0.39	>1000	>1000	>1000	6.25	>100	>1000	>1000	>1000	>1000	25	>100
<i>Staphylococcus aureus</i> 308 A-1	100	— ^{a)}	—	—	—	—	0.78	—	—	—	6.25	—	—	—	—	—	25	>100
<i>Staphylococcus aureus</i> 1840	100	—	—	—	—	—	0.78	—	—	—	12.5	—	—	—	—	—	25	>100
<i>Streptococcus pyogenes</i> E-14 ^{b)}	50	—	—	—	—	—	<0.20	—	—	—	1.56	—	—	—	—	—	12.5	>100
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-8 ^{b)}	50	—	—	—	—	—	<0.20	—	—	—	1.56	—	—	—	—	—	25	>100
<i>Streptococcus viridans</i> AMERICA ^{b)}	100	—	—	—	—	—	0.78	—	—	—	12.5	—	—	—	—	—	100	>100
<i>Streptococcus faecalis</i> LS-101 ^{b)}	100	—	—	—	—	—	3.13	—	—	—	25	—	—	—	—	>100	>100	>100
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> TRONTO ^{b)}	3.13	—	—	—	—	—	<0.20	—	—	—	1.56	—	—	—	—	—	3.13	>100
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	100	—	—	—	—	—	0.78	—	—	—	25	—	—	—	—	—	50	>100
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	>100	>1000	>1000	>100	>1000	>1000	3.13	>1000	>1000	>1000	>100	>100	>1000	>1000	>1000	>1000	25	>100
<i>Escherichia coli</i> O-111	>100	—	—	—	—	—	1.56	—	—	—	50	—	—	—	—	—	12.5	>100
<i>Escherichia coli</i> T-7	>100	—	—	—	—	—	3.13	—	—	—	100	—	—	—	—	—	25	>100
<i>Salmonella typhosa</i> Boxhill-58	>100	—	—	—	—	—	6.25	—	—	—	100	—	—	—	—	—	25	>100
<i>Shigella flexneri</i> EW-10	50	—	—	—	—	—	0.39	—	—	—	6.25	—	—	—	—	—	1.56	>100
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	100	—	—	—	—	—	0.78	—	—	—	12.5	—	—	—	—	—	6.25	>100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> DT	>100	—	—	—	—	—	25	—	—	—	>100	—	—	—	—	>100	>100	>100
<i>Proteus vulgaris</i> IFO 3988	>100	—	—	—	—	—	25	—	—	—	>100	—	—	—	—	100	>100	>100
<i>Proteus morganii</i> IFO 3168	>100	—	—	—	—	—	>100	—	—	—	>100	—	—	—	—	>100	>100	>100
<i>Proteus mirabilis</i> IFO 3849	>100	—	—	—	—	—	>100	—	—	—	>100	—	—	—	—	100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> U-31	>100	—	—	—	—	—	>100	—	—	—	>100	—	—	—	—	100	>100	>100
<i>Serratia marcescens</i> IFO 12648	>100	—	—	—	—	—	>100	—	—	—	>100	—	—	—	—	—	—	>100

a) Not tested. b) Trypto-soy agar + 10% horse blood.

VIII のアシル化を検討したが、通常の方法（混合酸無水物法または酸塩化物との反応）では精製困難な反応混合物を与えるのみで、正常な生成物は単離できなかった。

そこで Chart 4 に掲げたごとく、triethylamine または N-methylmorpholine の存在下、所望のカルボン酸と VIII とを DCCD⁸⁾ で処理したところ、目的物を得ることができた。この際、HOBt⁹⁾ を添加しないと反応が進行し難かった場合もある。

また、ある種の酸無水物については、ピリジンの存在下で VIII と反応せしめて、IX を得ることができた。

かくして合成された化合物を、Table II に示す。

このうち、IX_f を I と比較したところ、融点、分子式、スペクトルデータ等のすべてについて完全な一致を示し、両者が同一化合物であることが証明された。

抗菌活性

抗菌活性 (*in vitro*) 試験には、当研究所保存の菌株を使用し *Staphylococcus* 属 3 株、*Streptococcus* 属 4 株、*Corynebacterium* 属 1 株、*Bacillus* 属 1 株、*Escherichia* 属 3 株、*Salmonella* 属 1 株、*Shigella* 属 2 株、*Klebsiella* 属 1 株、*Proteus* 属 3 株、*Pseudomonas* 属 1 株、*Serratia* 属 1 株の合計 21 株を用い最小発育阻止濃度 (MIC, $\mu\text{g/ml}$) を測定した。I は一部の陰性菌を除くグラム陽性およびグラム陰性菌に抗菌力を示すいわゆる広領域抗生物質のスペクトルを示すことは前報¹⁾ で報告した。Table III に示すように I のアラニン N 末端をアシル化した誘導体の中では VI_k および VI_l に弱い活性が残存していることが認められるが、他には注目すべき活性を見出すことはできなかった。

一方、VIII の誘導体 (Table IV) の中では、IX_f に強い活性が認められる。IX_f は I と同一品であり活性を有することは当然であると言えるが、立体配置の異なる D-アラニンをつけた IX_g に全く作用がないことからアラニンの立体配置が抗菌活性に重要な因子となることを示唆している。

そこで、他の L-アミノ酸を導入した化合物 (IX_i, IX_j, IX_l, IX_{n-q}) 等の活性について検討したところ、IX_j および IX_p に弱い活性の保持が見られた。その抗菌力はおおよそ I の 1/8—1/6 程度であり、V の活性¹⁾ に匹敵する。抗菌のパターンも、スペクトルを比較すると I および V に類似している。VIII は I に比し著しく弱いとはいえ活性は保持しており *Corynebacterium* や *Streptococcus* などの菌においては有効と考えられる。

以上の観察から I のアラニン部分を、これより分子量の大きなアミノ酸や立体配置の異なるアミノ酸を導入するとおおむね失活し、またアラニン N 末端のアシル化もかさ高い置換基を導入することによって活性の低下をもたらすことが結論づけられる。

また前報¹⁾ において述べた如く 5 位水酸基の欠如は抗菌活性に著しい影響を及ぼさないことを考えると、アラニン部分の活性に及ぼす影響は非常に大きい。X 線結晶構造解析において報告¹⁰⁾ したようにアラニンとジクロルメチル基が形成する *Hydrophilic hole* が活性に大きく寄与することの妥当性が示唆された。

実験の部

融点は、おおむね、230° 以下の場合硫酸浴、230° 以上の場合三田村理研 (株) 製微量融点測定装置 (Type I-128, シリコン浴) を用いて測定し、未補正。PMR および CMR スペクトルは日本電子 (株) 製 JNM-PS-100 型および JNM-FX-100 型を使用し、いずれも TMS または DSS (測定溶媒に D₂O を用いる場合) を内部標準とした δ 値で示した。s は singlet, d は doublet, t は triplet, q は quartet, m は multiplet を示す。MS スペクトルは日本電子 (株) 製 JMS-O 1 SG 型、IR スペクトルは日本分光 (株) 製 IRA-2 型を使用。薄層クロマト (TLC) は Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) を使用。

抗菌力試験 Table III に掲げた標準菌株を用い、グラム陽性菌群およびグラム陰性菌群に対する抗菌力を測定した。前培養に Tryptosoy bouillon (Eiken)、測定培地に Tryptosoy agar (TSA) (Eiken) を、*Streptococcus* 群および *Corynebacterium diphtheriae* には 10% 馬脱繊維血液を含む TSA を用いる日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法¹¹⁾ により、37°, 20 時間培養後の最小発育阻止濃度 (MIC, $\mu\text{g/ml}$) を求めた。

N-L-Alanylactobolin (VI_a≡III) N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanine 134 mg, Et₃N 111.3 mg を CH₂Cl₂ 5 ml に溶かし、-25° に保ちつつ ClCOOEt 65 mg を加え、0.5 hr 攪拌後、-50° に冷し、I (塩酸塩) 210 mg を MeOH 10 ml に溶かした液を滴加、引続き同温で 0.5 hr、室温で 1 hr 攪拌。析出物をろ取、H₂O, EtOH の順で洗滌して、無色結晶状粉末 175 mg を得る。(以下の文中では、この基本操作を MA 法と略称する)。本品を MeOH

4 ml, AcOH 1 ml, 5 N HCl 0.1 ml の混液に溶かし, 10% Pd-C 25 mg を加え, 室温攪拌下 H_2 を 1.5 hr 通導する. 触媒をろ去, ろ液を減圧下濃縮乾固, 残留物に EtOH 少量を加え, 氷室中に一夜放置後, 析出した結晶をろ取, MeOH より再結して, VI_a の塩酸塩 84 mg を mp 231—232° (dec.) の無色針状結晶として得た. *Anal.* Calcd $C_{16}H_{25}Cl_2N_3O_7 \cdot HCl$: C, 40.14; H, 5.47; N, 8.78. Found: C, 40.19; H, 5.42; N, 8.54. 本品の融点, TLC, IR ならびに PMR は III¹⁾ のそれらと完全に一致.

N-D-Phenylglycylbactobolin (VI_b) N-[1-(N,N-Dimethylcarbamoyl)-2-propenyl]-D-phenylglycine 85 mg, I (塩酸塩) 104.5 mg を MA 法処理して, 無色結晶状粉末 86 mg を得た. mp 123—126°. 本品を MeOH 10 ml, H₂O 1 ml の混液に溶かし, 5 N HCl 1 ml を加え, 室温で 1 hr 放置後, 減圧下濃縮乾固して VI_b の塩酸塩 66 mg を mp 215—218° (dec.) の無色無定形粉末として得た. MS *m/e*: 106 (base peak), 515 (M^+ , ごく微弱に検出). PMR (CD_3OD) δ : 1.49 (3H, d, Ala-CH₃), 1.68 (3H, s, C₃-CH₃), 6.37 (1H, s, CHCl₂), 7.50 (5H, m, Ar-H).

N-(O-tert-Butyl-L-tyrosyl)bactobolin (VI_d) O-tert-Butyl-L-tyrosine 320 mg, I (塩酸塩) 300 mg を MA 法処理して得られる生成物を MeOH から再結晶して, mp 153—155° (dec.) の無色針状結晶 320 mg を得た. 本品を HCl, 10% Pd-C の存在下, 還元的に保護基を除去して得られる生成物を, MeOH 少量を含む iso-PrOH から再結晶して, VI_d の塩酸塩の溶媒和物 213 mg を mp 223° (dec.) の無色針状結晶として得た. *Anal.* Calcd $C_{27}H_{37}Cl_2N_3O_8 \cdot HCl \cdot C_3H_8O \cdot 3H_2O$: C, 47.84; H, 6.96; N, 5.58. Found: C, 48.03; H, 6.53; N, 5.63. PMR (CD_3OD) δ : 1.14 (6H, d, CH (CH₃)₂ of iso-PrOH), 1.33 (9H, s, C (CH₃)₃), 1.40 (3H, d, Ala-CH₃), 1.68 (3H, s, C₃-CH₃), 6.31 (1H, s, CHCl₂), 6.90—7.30 (4H, a pair of d, Ar-H).

N-L-Tyrosylbactobolin (VI_e) VI_d 250 mg を 20% HCl 含 MeOH 5 ml に加え, 50° で 0.5 hr 加熱すると, 元の結晶は一旦溶解した後, 新たに結晶が析出してくる. 減圧下濃縮乾固し, 残留物を MeOH を含む iso-PrOH から再結晶して, VI_e の塩酸塩の溶媒和物 205 mg を mp 219—220° (dec.) の無色針状結晶として得た. *Anal.* Calcd $C_{23}H_{29}Cl_2N_3O_8 \cdot HCl \cdot C_3H_8O \cdot 3H_2O$: C, 44.80; H, 6.36; N, 6.03. Found: C, 44.87; H, 5.96; N, 5.98. PMR (CD_3OD) δ : 1.13 (6H, d, CH (CH₃)₂ of iso-PrOH), 1.39 (3H, d, Ala-CH₃), 1.67 (3H, s, C₃-CH₃), 6.23 (1H, s, CHCl₂), 6.64—7.16 (4H, a pair of d, Ar-H).

N-(N,N-Dimethylglycyl)bactobolin (VI_f) N,N-Dimethylglycine-HCl 0.48 g, I (塩酸塩) 1.2 g を MA 法処理して得られる生成物を, HCl 塩として捕捉後, EtOH/iso-Pr₂O 混液より再結晶して, VI_f の塩酸塩 1.0 g を mp 239—241° (dec.) の無色針状結晶として得た. *Anal.* Calcd $C_{18}H_{27}Cl_2N_3O_7 \cdot HCl$: C, 42.82; H, 5.59; N, 8.32. Found: C, 42.49; H, 5.50; N, 8.06. PMR (D_2O) δ : 1.40 (3H, d, Ala-CH₃), 1.72 (3H, s, C₃-CH₃), 4.04 (2H, s, COCH₂N), 6.22 (1H, s, CHCl₂).

N-(N,N-Dimethylcarbamoyl)bactobolin (VI_i) I の塩酸塩 418 mg を pyridine 5 ml に溶かし, 氷冷下 dimethylcarbamyl chloride 160 mg, Et₃N 0.35 ml の順に加え, 室温にもどして 1 hr 攪拌. 反応液を減圧下濃縮乾固, 残留物を AcOEt 少量に溶かし, SiO₂ (40 g) カラムに通導, AcOEt/MeOH (20: 1) 混液で溶出する画分から, VI_i 200 mg を mp 204° (dec.) の無色針状結晶 (EtOH 再結) を得た. 本品には mp 137—139° の結晶多型体が存在する. MS *m/e*: 211 (base peak), 453 (M^+), PMR (CD_3OD) δ : 1.34 (3H, d, Ala-CH₃), 1.67 (3H, s, C₃-CH₃), 6.30 (1H, s, CHCl₂).

N-Ethoxycarbonylbactobolin (VI_k) I の塩酸塩 210 mg, NaHCO₃ 109 mg を H₂O 5 ml に溶かし, ClCOOEt 70.5 mg を加え室温で 1 hr 攪拌. 反応液を減圧下濃縮乾固, 残留物を AcOEt/MeOH (10: 1) の混液に懸濁させ, SiO₂ (10 g) カラムに通導, AcOEt/MeOH (1: 1) 混液で溶出する画分から, VI_k 102 mg を mp 136—138° の無色針状結晶 (EtOH 再結) として得た. MS *m/e*: 116 (base peak), 211, 454 (M^+). PMR (CD_3OD) δ : 1.17 (3H, t, CH₂CH₃), 1.32 (3H, d, Ala-CH₃), 1.67 (3H, s, C₃-CH₃), 6.28 (1H, s, CHCl₂).

N-Methanesulfonylbactobolin (VI_l) I の塩酸塩 418 mg, NaHCO₃ 210 mg を H₂O 5 ml に溶かし, CH₃-SO₂Cl 215 mg を加え室温で 1.5 hr 攪拌. この間, 0.5 hr 後に NaHCO₃, CH₃SO₂Cl をそれぞれ同一量追加. 析出した結晶をろ取, MeOH より再結晶して VI_l 267 mg を mp 249—250° (dec.) の無色針状結晶として得た. MS *m/e*: 122 (base peak), 211, 460 (M^+). PMR ($DMSO-d_6$) δ : 1.22 (3H, d, Ala-CH₃), 1.60 (3H, s, C₃-CH₃), 2.92 (3H, s, SO₂CH₃), 4.72 (1H, d, C₄-H), 6.26 (1H, s, CHCl₂).

N-(N-Phenylthiocarbamoyl)bactobolin (VII) I の塩酸塩 1.0 g を pyridine 10 ml に溶かし, phenyl isothiocyanate 0.4 g を滴下し, 室温で 20 hr 攪拌後, 減圧下, 室温で溶媒を完全に留去, 残留物に benzene を加え析出する結晶をろ取する. 本品を CHCl₃ に溶かし, H₂O と振盪後有機層を分取, MgSO₄ で乾燥後, 減圧下濃縮乾固して, VII 1.18 g を mp 211° (dec.) の淡黄色結晶状粉末として得た. *Anal.* Calcd $C_{21}H_{25}Cl_2N_3O_6S$: C, 48.65; H, 4.86; N, 8.11. Found: C, 48.38; H, 4.85; N, 7.97.

Bactobolamine (VIII) VII 1.0 g を CF_3COOH 6 ml に溶かし, N_2 気流下, $55-60^\circ$ で 6 hr 攪拌. 減圧下, 室温で反応液を濃縮乾固, 残留物を 5% HCl と混じ, CHCl_3 で抽出して副生した 2-methyl-5-phenyl-4-thiohydantoin を除去, HCl 層を分取して, 減圧下濃縮乾固して VIII の塩酸塩 0.4 g を mp 283° (dec.) の無色砂状結晶として得た. *Anal.* Calcd $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{NO}_5 \cdot \text{HCl}$: C, 37.90; H, 4.63; N, 4.02; Cl, 30.51. Found: C, 37.94; H, 4.59; N, 4.13; Cl, 30.77. PMR (CD_3OD) δ : 1.76 (3H, s, $\text{C}_3\text{-CH}_3$), 2.30—3.12 (2H, a pair of dd, $\text{C}_7\text{-H} \times 2$), 3.10—4.10 (3H, m, $\text{C}_{4a}\text{-H}$, $\text{C}_5\text{-H}$, $\text{C}_6\text{-H}$), 4.16 (1H, d, $\text{C}_4\text{-H}$), 6.34 (1H, s, CHCl_2). VIII の塩酸塩 0.2 g を H_2O 少量に溶かし, NaHCO_3 で中和すると無色結晶が析出. ろ取, H_2O 洗後, $\text{MeOH}/\text{acetone}$ 混液より再結晶して, VIII の遊離塩基 0.15 g を mp $137-139^\circ$ (dec.) の無色微細結晶状粉末として得た. *Anal.* Calcd $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{NO}_5$: C, 42.33; H, 4.84; N, 4.49; Cl, 30.51. Found: C, 41.96; H, 4.79; N, 4.35; Cl, 30.77. PMR (CF_3COOH) δ : 2.94 (3H, s, $\text{C}_3\text{-CH}_3$), 2.65—3.46 (2H, a pair of dd, $\text{C}_7\text{-H} \times 2$), 3.50—4.60 (3H, m, $\text{C}_{4a}\text{-H}$, $\text{C}_5\text{-H}$, $\text{C}_6\text{-H}$), 4.77 (1H, d, $\text{C}_4\text{-H}$), 6.18 (1H, s, CHCl_2).

N-Acetylbactobolamine (IXa) VIII の塩酸塩 350 mg を, pyridine 中 Ac_2O と反応せしめ, 得られる生成物を AcOEt で処理して IXa 305 mg を mp $254-255^\circ$ (dec.) の無色針状結晶として得た. *Anal.* Calcd $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{NO}_6$: C, 44.08; H, 4.84; N, 3.96. Found: C, 43.52; H, 4.77; N, 3.90. MS m/e : 211 (base peak), 354 (M^+), PMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.60 (3H, s), 1.95 (3H, s), 4.60 (1H, dd, $\text{C}_4\text{-H}$), 6.28 (1H, s, CHCl_2), 8.14 (1H, d, CONH).

N-Picolinoylbactobolamine (IXc) VIII の塩酸塩 200 mg, picolinic acid 70 mg および N-methylmorpholine 62 mg を THF 5 ml に溶かし, -10° に保ちつつ DCCD 140 mg を加え, 1 hr 攪拌後, 氷室中で 1 夜放置, 析出した結晶をろ去, ろ液を AcOEt に溶かし, H_2O と振盪後, 有機層を分取, MgSO_4 で乾燥後減圧下濃縮乾固. 残留物を CHCl_3 に溶かし, SiO_2 (15 g) カラムに通導, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (20: 1) 混液で溶出する画分を TLC [$\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (10: 1)] で調べ, R_f 値 0.62 に単一スポットを示す部分を集め減圧下濃縮して, IXc 180 mg を mp $139-140^\circ$ (dec.) の無色針状結晶として得た. MS m/e : 104 (base peak), 211, 416 (M^+). PMR (CDCl_3) δ : 1.76 (3H, s, $\text{C}_3\text{-CH}_3$), 6.00 (1H, s, CHCl_2), 7.20—8.60 (4H, m, pyridine-H).

N-(L-Alanyl)bactobolamine (IXf=I) VIII の遊離塩基 310 mg, N-*tert*-butyloxycarbonyl-L-alanine 208 mg を THF 中, Et_3N の存在下 DCCD で縮合せしめて得られる生成物を CHCl_3 に溶かし, SiO_2 (25 g) カラムに通導, まず CHCl_3 で展開溶出する. つぎに, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (20: 1) で溶出する画分を集め, 減圧下濃縮乾固, 残留物を 35% HCl 2 ml に溶かした後, 減圧下濃縮乾固. 残留物を MeOH で処理して IXf の塩酸塩・1 水和物 185 mg を mp $220-222^\circ$ (dec.) の無色針状結晶として得た. *Anal.* Calcd $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_6 \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 38.41; H, 5.30; N, 6.40. Found: C, 38.70; H, 5.41; N, 6.25. 本品の融点, TLC, IR ならびに PMR は I¹⁾ のそれらと完全に一致した.

N-(L-Methionyl)bactobolamine (IXn) VIII の塩酸塩 200 mg, N-*tert*-butyloxycarbonyl-L-methionine 140 mg を THF 中, N-methylmorpholine および HOBt (91 mg) の存在下 DCCD で縮合せしめて, 得られる生成物を CHCl_3 に溶かし, SiO_2 (30 g) カラムに通導, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (20: 1) で溶出する画分より, N-(*tert*-butyloxycarbonyl-L-methionyl) bactobolamine 130 mg を mp $96-98^\circ$ (dec.) の無色針状結晶として得た. 本品を 0° で CF_3COOH に溶かし, 室温で減圧下濃縮乾固, 残留物を iso- Pr_2O で処理して IXn のトリフルオロ酢酸塩のイソプロピルエーテル和物 125 mg を mp $107-110^\circ$ (dec.) の無色結晶状粉末として得た. PMR (CF_3COOH) δ : 1.35 (6H, d, iso- $\text{PrO}_2\text{-CH}_3 \times 2$), 1.94 (3H, s, $\text{C}_3\text{-CH}_3$), 2.27 (3H, s, SCH_3), 6.20 (1H, s, CHCl_2).

N-(2-Hydroxypropionyl)bactobolamine (IXq) I の塩酸塩 630 mg を H_2O 10 ml に溶かし, 35% HCl 2 滴を加えた液を 15° に保ちつつ, NaNO_2 210 mg を加え 1 hr 攪拌後, さらに, 35% HCl 2 滴, NaNO_2 210 mg を加え, 引続き 1 hr 攪拌. 反応液を AcOEt で抽出, 有機層を分取, H_2O で 1 回洗った後減圧下濃縮乾固, 残留物を CHCl_3 に溶かし, SiO_2 (40 g) カラムに通導, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (10: 1) で溶出. TLC [$\text{benzene}/\text{AcOEt}/\text{AcOH}$ (10: 5: 1)] で調べ, R_f 値 0.17 に単一スポットを示す画分より IXq 10 mg を mp $241-244^\circ$ の無色板状結晶として得た. MS m/e : 211 (base peak), 383 (M^+), PMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.22 (3H, d, $\text{COCH}(\text{CH}_3)\text{O-}$), 1.61 (3H, s, $\text{C}_3\text{-CH}_3$), 5.38 (1H, dd, $\text{C}_4\text{-H}$), 6.24 (1H, s, CHCl_2), 7.68 (1H, d, CONH).

謝辞 本研究に当り, 発表の機会を与えられた吉富製薬株式会社 中西美智夫博士, 御助言を賜りました横部哲朗博士に深謝致します. 本研究の実験の一部を担当していただいた当研究所の方々に感謝致します.

引用文献および注

- 1) 第 1 報: 宗像友彦, 堺 純一, 松木日出生, 飯盛勝義, 薬誌, 101, 132 (1981).

- 2) Location: 955, *Koiwai, Yoshitomi-cho, Chikugo-gun, Fukuoka.*
- 3) S. Kondo, Y. Horiuchi, M. Hamada, T. Takeuchi, H. Umezawa, *J. Antibiot.*, **32**, 1069 (1979).
- 4) R.F. Struck, M.C. Thorpe, W.C. Coburn, Jr., Y.F. Shearly, *Tetrahedron Lett.*, **17**, 1589 (1967).
- 5) T. Okumoto, M. Kontani, H. Hoshino, M. Nakanishi, *J. Pharm. Dyn.*, **3**, 177 (1980).
- 6) P. Edman, *Acta. Chem. Scand.*, **4**, 283 (1950).
- 7) H.Haskell, R.M. Rodebaugh, *Abstr. Papers, Am. Chem. Soc.*, **1972**, No. 164, MEDI 22.
- 8) Dicyclohexyl carbodiimide.
- 9) Hydroxybenztriazole.
- 10) 上田幾彦, 宗像友彦, 堺 純一, *Acta Crystallogr.*, B-36, 3128 (1980).
- 11) 日本化学療法学会 MIC 測定法改訂委員会, *Chemotherapy*, **22**, 1126 (1974).