コリスチン関連化合物の研究 (第 10 報¹⁾) コリスチン 誘導体の合成と抗菌活性について

栗原藤三郎, 武田秀雄, 伊藤秀雄
東北薬科大学²⁾

Studies on the Compounds related to Colistin. X.¹⁾ Synthesis and Antibacterial Activity of Colistin Derivatives

TOZABURO KURIHARA, HIDEO TAKEDA and HIDEO ITO
*Tohoku College of Pharmacy*²⁾

(Received April 4, 1974)

In order to obtain better antibiotics than natural colistin, colistin derivatives were synthesized by replacing 6-methyloctanoic acid or 6-methylheptanoic acid in colistin with various organic acids or aromatic sulfonic acids. Twenty kinds of (2-acylamido- or -sulfonamido-4-aminobutyric acid)^{1'}-colistin were obtained by the condensation of organic acids with pentabenzoyloxycarbonyldeacylcolistin¹⁾ by the dicyclohexylcarbodiimide method or with acyl chloride or sulfonyl chloride by the Schotten-Baumann reaction, followed by liberation of the benzoyloxycarbonyl group. Among these derivatives of colistin, two of them showed antibacterial activity against gram-negative bacteria equal to that of colistin sulfate and two that showed an effect against gram-positive bacteria.

コリスチンはグラム陰性菌に著効を示す環状アシルデカペプチドの抗生物質である。

著者らはコリスチンよりもさらに優れた抗生物質を得ようとしてコリスチンの中にアミド結合している 6-メチルオクタン酸基または 6-メチルヘプタン酸基を種々の acyl 基または arylsulfonyl 基で置換したコリスチン誘導体を合成し、それらの抗菌活性について検討し、若干の知見を得たので報告する。合成法としては、まず前報¹⁾で得た側鎖トリペプチドの N 末端の α , γ -ジアミノ酪酸の α 位のアミノ基のみを遊離し、その他のアミノ基をすべて benzoyloxycarbonyl 基で保護した pentabenzoyloxycarbonyl deacylcolistin (5-Z-Dac と略す) にアシル基またはスルホニル基を導入した化合物を合成した。この縮合のため、初めに 5-Z-Dac と有機酸を tetrahydrofuran (THF) と dimethylformamide (DMF) との混液に溶解し、dicyclohexylcarbodiimide (DCCD) を用いてアシル化を行なったが、収率は 20% 以下と低収率であったので、Schotten-Baumann 法に切りかえ、所期の収率を収めることができた。この場合、使用する塩基、溶媒、反応時間により収率は左右され、用いた塩基では pyridine の場合が最も好結果 (80% 以上) をあげた。溶媒としては反応時間が長い場合、最も好結果を得たのは THF-dioxane の混液を用いた時であった。このようにして pentabenzoyloxycarbonyl-[2-acylamido-4-aminobutyric acid]^{1'}-colistin 18 種を得た。ついで γ -アミノ基を保護した benzoyloxycarbonyl 基を接触還元法と液安法の二方法を適宜用いて離脱した。接触還元法では、この化合物をメタノール性塩酸に溶解し、Pd-C を触媒とし、水素化して保護基を離脱した。液安法ではアシル体を液体アンモニアに溶解し、金属ナトリウムを加えることによって目的を達し得た。ついでこれらの反応生成物をカラムクロマトグラフィーで精製して、目的の [2-acylamido-4-aminobutyric acid]^{1'}-colistin を得た一方アリルスルホニル基を導入したコリスチン誘導体の合成は 5-Z-Dac にアルカリ存在下でアリルスルホニルクロライドを作用して pentabenzoyloxycarbonyl[2-sulfonamido-4-aminobutyric acid]^{1'}-colistin に変じ、ついで Pd-C 存在下に水素化して、benzoyloxycarbonyl 基を離脱し、カラムクロマトグラフィーで精製し、目的の [2-sulfonamido-4-aminobutyric acid]^{1'}-colistin 2 種を合成した。以上合成したこれらの中間生成物および最終生成物の諸物理恒数を Table I および II に示した。

1) 第 9 報: 栗原藤三郎, 武田秀雄, 伊藤秀雄, 佐藤弘幸, 清水昌寿, 黒沢秋雄, 薬誌, 94, 1491 (1974)。

2) Location: Komatsushima, Sendai.

TABLE I. Pentabenzoyloxycarbonyl-[2-acylamido or sulfonamido-4-aminobutyric acid]^{1'}-colistin

Compd. No.	Acyl radical or Sulfonyl radical	mp (°C)	$[\alpha]_D^{19}$ (c=1.0, DMF)	Formula	Analysis (%)		
					Calcd. (Found)	C	H N
I	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CO}$	185—187	-21.6°	$\text{C}_{89}\text{H}_{122}\text{O}_{23}\text{N}_{16}$	59.92 (59.77)	6.89 6.75	12.56 12.49
II	$(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{CHCH}_2\text{CO}$ CH_3	235—236	-26.4°	$\text{C}_{94}\text{H}_{132}\text{O}_{23}\text{N}_{16}$	60.89 (60.76)	7.23 7.11	12.09 12.03
III	- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$	232—234	-19.3°	$\text{C}_{94}\text{H}_{124}\text{O}_{23}\text{N}_{16}$	61.16 (61.05)	6.77 6.64	12.14 12.08
IV	- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$	217—219	-24.7°	$\text{C}_{94}\text{H}_{123}\text{O}_{23}\text{N}_{16}\text{Cl}$	60.04 (59.87)	6.59 6.48	11.92 11.79
V	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$	204—206	-32.3°	$\text{C}_{91}\text{H}_{126}\text{O}_{23}\text{N}_{16}\text{S}$	59.27 (59.14)	6.89 6.74	12.15 12.08
VI	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$	187—189	-28.6°	$\text{C}_{92}\text{H}_{128}\text{O}_{23}\text{N}_{16}\text{S}$	59.47 (59.35)	6.94 6.79	12.06 11.94
VII	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$	208—210	-27.8°	$\text{C}_{92}\text{H}_{128}\text{O}_{25}\text{N}_{16}\text{S}$	58.46 (58.32)	6.83 6.68	11.86 11.79
VIII	- $\text{CH}_2\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$	192—193	-31.4°	$\text{C}_{94}\text{H}_{124}\text{O}_{23}\text{N}_{16}\text{S}$	60.11 (60.04)	6.65 6.47	11.93 11.78
IX	- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$	186—187	-29.7°	$\text{C}_{95}\text{H}_{126}\text{O}_{23}\text{N}_{16}\text{S}$	60.30 (60.12)	6.71 6.58	11.84 11.71
X	$\text{CH}_3\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{CO}$ Cl	204—206	-22.4°	$\text{C}_{95}\text{H}_{133}\text{O}_{23}\text{N}_{16}\text{Cl}$	59.97 (59.84)	7.05 6.93	11.78 11.65
XI	$\text{ClCH}_2\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{CO}$ Cl	209—211	-17.3°	$\text{C}_{95}\text{H}_{132}\text{O}_{23}\text{N}_{16}\text{Cl}_2$	58.90 (58.73)	6.87 6.72	11.57 11.46
XII	$\text{HSCH}_2(\text{CH}_2)_9\text{CO}$	200—202	-19.8°	$\text{C}_{95}\text{H}_{134}\text{O}_{23}\text{N}_{16}\text{S}$	60.05 (59.87)	7.11 7.03	11.79 11.64
XIII	$\text{CH}_3\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NHCH}_2(\text{CH}_2)_9\text{CO}$	223—225	-21.4°	$\text{C}_{102}\text{H}_{141}\text{O}_{24}\text{N}_{17}$	61.58 (61.45)	7.14 7.02	11.97 11.86
XIV	- $\text{NHCH}_2(\text{CH}_2)_9\text{CO}$	216—218	-20.3°	$\text{C}_{98}\text{H}_{136}\text{O}_{23}\text{N}_{18}\text{S}$	59.86 (59.73)	6.97 6.85	12.82 12.71
XV		232—234	-18.3°	$\text{C}_{98}\text{H}_{124}\text{O}_{23}\text{N}_{16}$	62.14 (62.02)	6.60 6.47	11.83 11.78
XVI		185—186	-27.6°	$\text{C}_{89}\text{H}_{116}\text{O}_{23}\text{N}_{16}$	60.12 (60.02)	6.58 6.46	12.61 12.47
XVII	- $\text{CH}=\text{CHCO}$	174—176	-29.1°	$\text{C}_{91}\text{H}_{118}\text{O}_{24}\text{N}_{16}$	60.05 (59.94)	6.53 6.37	13.08 12.94
XVIII	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CHCO}$ C_6H_5	213—215	-24.3°	$\text{C}_{96}\text{H}_{128}\text{O}_{23}\text{N}_{16}$	61.52 (61.37)	6.88 6.73	11.96 11.85
XIX	$\text{H}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_2$	197—199	-28.2°	$\text{C}_{90}\text{H}_{119}\text{O}_{24}\text{N}_{17}\text{S}$	58.36 (58.24)	6.48 6.37	12.86 12.75
XX	$(\text{CH}_3)_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_2$	189—191	-26.4°	$\text{C}_{96}\text{H}_{125}\text{O}_{24}\text{N}_{17}\text{S}$	59.64 (59.49)	6.52 6.35	12.32 12.16

合成したコリスチン誘導体の抗菌力試験は寒天平板希釈法によって, *in vitro* での各種のグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対する最小発育阻止濃度を検定し, その結果を Table III に示した. なお対照としては前報で得た deacylcolistin 塩酸塩およびコリスチン硫酸塩を用いた.

TABLE II. [2-Acylamido or Sulfonamido-4-aminobutyric acid]¹⁷-colistin Hydrochloride

No.	Acyl radical or Sulfonyl radical	mp (°C)	[α] _D ²⁰ (c=1.0, DMF)	P.P.C. R _f %)	Formula	Analysis (%)					
						Calcd.			Found		
						C	H	N	C	H	N
XXI	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ CO	208—210	-28.3°	0.37	C ₄₉ H ₉₇ O ₁₃ N ₁₆ Cl ₅	45.42	7.55	17.30	45.27	7.41	17.26
XXII	(CH ₃) ₂ CH(CH ₂) ₃ CHCH ₂ CO CH ₃	241—243	-30.4°	0.44	C ₅₄ H ₁₀₇ O ₁₃ N ₁₆ Cl ₅	47.49	7.90	16.41	47.35	7.87	16.23
XXIII		238—239	-24.6°	0.42	C ₅₄ H ₉₉ O ₁₃ N ₁₆ Cl ₅	47.77	7.35	16.51	47.62	7.27	16.47
XXIV		223—225	-30.1°	0.38	C ₅₄ H ₉₈ O ₁₃ N ₁₆ Cl ₆	46.59	7.10	16.10	46.46	7.01	15.92
XXV	CH ₃ (CH ₂) ₃ SCH ₂ CH ₂ CO ₂	219—221	-34.2°	0.37	C ₅₁ H ₁₀₁ O ₁₃ N ₁₆ Cl ₅ S	45.18	7.51	16.53	45.12	7.42	16.42
XXVI	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ CH ₂ SCH ₂ CH ₂ CO	205—207	-30.7°	0.38	C ₅₂ H ₁₀₃ O ₁₃ N ₁₆ Cl ₅ S	45.59	7.58	16.36	45.43	7.45	16.19
XXVII	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ CH ₂ SO ₂ CH ₂ CH ₂ CO	224—226	-31.8°	0.41	C ₅₂ H ₁₀₃ O ₁₅ N ₁₆ Cl ₅ S	44.55	7.41	15.99	44.48	7.27	15.72
XXVIII		228—230	-35.3°	0.39	C ₅₄ H ₉₉ O ₁₃ N ₁₆ Cl ₅ S	46.67	7.18	16.13	46.51	7.03	15.97
XXIX		203—204	-32.7°	0.40	C ₅₅ H ₁₀₁ O ₁₃ N ₁₆ Cl ₅ S	47.06	7.25	15.96	46.98	7.18	15.80
XXX	CH ₃ CH(CH ₂) ₃ CO Cl	218—221	-28.4°	0.42	C ₅₅ H ₁₀₃ O ₁₃ N ₁₆ Cl ₆	46.71	7.70	15.85	46.57	7.60	15.69
XXXI	ClCH ₂ CH(CH ₂) ₃ CO Cl	223—224	-23.0°	0.38	C ₅₅ H ₁₀₇ O ₁₃ N ₁₆ Cl ₇	45.60	7.44	15.47	45.47	7.35	15.38
XXXII	HSCH ₂ (CH ₂) ₃ CO	214—216	-25.9°	0.41	C ₅₅ H ₁₀₉ O ₁₃ N ₁₆ Cl ₅ S	46.79	7.78	15.87	46.64	7.66	15.78
XXXIII	CH ₃ O-C ₆ H ₄ -NHCH ₂ (CH ₂) ₃ CO	229—230	-27.2°	0.42	C ₆₂ H ₁₁₆ O ₁₄ N ₁₇ Cl ₅	49.61	7.79	15.86	49.52	7.62	15.72
XXXIV		233—235	-23.4°	0.36	C ₅₈ H ₁₁₁ O ₁₃ N ₁₈ Cl ₅ S	47.13	7.57	17.06	47.02	7.39	16.85
XXXV		216—218	-22.5°	0.38	C ₅₅ H ₉₉ O ₁₃ N ₁₆ Cl ₅	49.55	7.10	15.94	49.38	6.97	15.77
XXXVI		196—198	-30.1°	0.42	C ₄₉ H ₉₁ O ₁₃ N ₁₆ Cl ₅ S	44.53	6.94	16.96	44.38	6.82	16.85
XXXVII		204—206	-33.1°	0.38	C ₅₁ H ₉₃ O ₁₄ N ₁₆ Cl ₅	46.00	7.04	16.83	45.83	6.87	16.65

結 論

アシル基を半合成的に種々変えたコリスチン誘導体においてアシル基の差による抗菌性については次のように推察される。

- 1) 天然コリスチンのアシル基を種々のアシル基で置換して合成した化合物は全般的にコリスチンと同じ傾向の抗菌スペクトルを示し、グラム陰性菌に対しては強い抗菌活性を示したが、2,3 の化合物を除いてはグラム陽性菌に対する効力は微弱であった。
- 2) これらの化合物の中で、3,7-dimethyloctanoyl 基および 3-phenethylthiopropionyl 基を導入した化合物はコリスチンと同程度の効力を示した。
- 3) 直鎖アシル基よりも分枝したアシル基を導入した化合物の抗菌性は強かった。
- 4) フェニル基を有するアシル基を導入した化合物においては若干の抗菌性の増強が認められた。
- 5) 11 位が Cl および SH など置換された undecanoyl 基を導入した化合物間においては抗菌性に有意の差は認められなかった。
- 6) Furyl 基を有するアシル基を導入した化合物には抗菌性が認められたが、その他の異項環を有する場合は抗菌性が微弱であった。
- 7) XXIX の化合物を除いてチオエーテルまたはその酸化体を有するアシル基を導入した化合物の抗菌性は微弱であった。
- 8) スルホンアミド体はグラム陰性菌に対してはコリスチン硫酸塩の 1/10 効力を示したがグラム陽性菌に対してはかなり強い抗菌性が認められた。

実 験 の 部³⁾

Pentabenzoyloxycarbonyl-[2-acylamido-4-aminobutyric Acid]^{1'}-colistin 類 (I-XVIII) の合成 A) Penta benzoyloxycarbonyldeacylcolistin (5-Z-Dac) 0.43 g (0.25 mmole) を THF 水溶液 (THF-H₂O=10:1) 100 ml に溶解し、室温で攪拌下に acylchloride 0.3 mmole を加え、ついで pyridine 0.2 g を少量ずつ滴下、滴下後 24 hr 攪拌を続け、1N HCl 200 ml を加え、析出した結晶をろ取、エーテル、水の順で洗い、水-DMF から再結晶。Table I.

B) 5-Z-Dac 0.43 g (0.25 mmole) と有機酸 0.25 mmole を THF-DMF (10:3) 混液 100 ml に溶解し、室温で攪拌下に DCCD 0.2 g (1.0 mmole) を加えて、24 hr 放置、ついで AcOH 3 ml を加えて、析出したジシクロヘキシル尿素をろ去、ろ液を減圧下に濃縮し、残渣を 1N HCl, 1N NaHCO₃, 水、エーテルの順に洗い、水-DMF から再結晶。

Pentabenzoyloxycarbonyl-[2-sulfonamido-4-aminobutyric Acid]^{1'}-colistin 類 (XIX-XX) の合成 5-Z-Dac 0.43 g (0.25 mmole) を THF-dioxane (10:3) の混液に溶解し、室温で攪拌下に arylsulfonylchloride 0.3 mmole と pyridine 0.2 g を数回に分け、交互に 2 hr 要して滴下、滴下後さらに 12 hr 攪拌し、析出した pyridine 塩酸塩をろ去し、ろ液を減圧下に濃縮し、残渣を 1N HCl, 1N NaOH, 水、エーテルの順で洗い、水-DMF から再結晶。Table I

[2-Acylamido or Sulfonamido-4-aminobutyric Acid]^{1'}-colistin Hydrochloride 類 (XXI-XL) の合成 A) 1-XX の化合物 0.3 g を少量の塩化水素を含むメタノール 20 ml に溶解し、5% Pd-C を触媒として、H₂ を通じ、反応終了後、触媒をろ去し、ろ液を減圧濃縮、残渣を水に溶解し、Sephadex-G10 カラムクロマトグラフィーに付し、水で溶出、単一画分を得た。この溶出液を減圧下に濃縮、残渣を少量のメタノール性塩酸に溶解し、減圧下にメタノールおよび塩化水素を除去し、さらに P₂O₅ デシケーター中で乾燥 (Table II)。

B) I—XVIII の化合物 0.3 g を液体アンモニアに溶解し、Na 小片 0.5 g を少量ずつ加え、15 min 溶液を濃青色に保つ、ついで AcONH₄ を少量ずつ加えて反応を停止し、アンモニアを蒸発させ、残渣に 1N HCl 3 ml を加えて溶解し、ろ過、ろ液を Sephadex-G10 カラムクロマトグラフィーに付し、後 A 法と同様に処理した。

謝辞 本研究に際し元素分析を実施された本学榎原房夫氏ならびに抗菌力試験を実施していただいた科薬抗生物質研究所の方々に深謝致します。

3) 融点はすべて未補正。