抗菌性グリコシドの構造と合成

梅 沢 純 夫*

Structures and Syntheses of Antibiotic Glycosides.

Sumio UMEZAWA*

I. 序 論

アミノ糖に関する化学が最近いじりしく進歩したのは、有用な抗生物質の構成成分として近時種々のアミノ糖が発見されたことによるものである。本稿は、著者の研究室においてこの数年間手がけている方面の研究を中心にして近時の進歩を述べたものである。

アミノ糖を含む抗生物質を化学的に分類すると大体つぎの6群に分けることができ、それぞれ生物活性において特徴をもっている。

第1群：糖類抗生物質 (carbohydrate antibiotics)-ストレプトマイシン、ネオマイシン、カナマイシン、パロモマイシン、ゲンタマイシン (gentamycin)、アクチノスペクタシン (actinospectacin) など。これらの多くはGram-陽性、陰性菌および結核菌に強い抗菌作用を有し、実用されるものが多い。ストレプトマイシンにはN-メチル-L-グルコサミンとストレプトタミンが含まれ、カナマイシンは3-アミノ-3-デオキシグルコース、6-アミノ-6-デオキシグルコースおよびデオキシストレプトタミンからなり、パロモマイシンには paromose が、ネオマイシンCには 2,6-ジアミノ-2,6-ジデオキシ-D-グルコース (neosamine とよぶ) が含まれている。

第2群：ヌクレオシド様抗生物質 (nucleoside-like antibiotics)-プロマイシン、アミセチン、セプタシジン (septacidin) ゴウゲロチン (gougerotin) など。細菌、原虫の発育を阻止し、制ガン作用をもつものが見いださ

れる。プロマイシンには 3-アミノ-3-デオキシ-D-リボースが、アミセチンには amosamine が、セプタシジンには 4-アミノ-4-デオキシ-アルドヘプトースが含まれる。

第3群：ストレプトスリシン群物質 (streptothricin group)-ストレプトスリシン、ストレプトリン、ラセモマイシン、ゲオマイシン (geomycin)、ポリマイシン (polymycin) など。この群はヘキソサミンにアミノ酸 (β -リジン、ロゼオニン) が結合したものである。細菌、カビ、酵母の発育を強く阻止するものが多いが、遷延性毒性を有するために実用しがたい。

第4群：マクロライド抗生物質 (macrolide-antibiotics)-エリスロマイシン、カルボマイシン、オレアンドマイシン、ロイコマイシン、スピラマイシン (spiramycin) など。大環式ラクトン構造を主体とし、ジメチルアミノ糖 (desosamine, mycaminose など) が結合している。広く抗細菌性を有し、リケッチア、ウィルスにも作用を有するものが多い。

この群に属し、特徴をもつ亜群として、ポリエン抗生物質 (polyene-antibiotics) がある。マクロライドであるが、一連の共役二重結合を含むものである。この群の物質は一般に強い抗カビ性を有するが、アミノ糖として mycosamine を含むものもあり、含まないものもあって抗カビ性を示すから、アミノ糖の存在は抗カビ性にとって必要な因子ではないと思われる。pimaricin, filipin, fungichromin などの構造が明らかにされている。

第5群：その他

例えば、pyrromycin はテトラサイクリン群物質に属するが、rhodosamine と称するジメチルアミノ糖を含む。

* 慶応義塾大学工学部応用化学科 (東京都小金井市市原町)

* Department of Applied Chemistry, Faculty of Engineering, Keio University (Koganei-shi, Tokyo)

図 1

上述したように種々のアミノ糖が見いだされ、それらの構造と合成に関する研究が最近活発に行われているが、生物活性を示すのは主として、グリコシド類であるから、アミノ糖グリコシドの合成もまた深い興味のあるところである。

グリコシドの形成はヘミアセタールをアセタールに変化させる反応であって一見簡単であるが糖分子が独特な、複雑な反応性を有するために、目的どおりの配置のグリコシドを合成しがたい場合にしばしば遭遇する。とくに α 型グリコシドを合成しがたい場合が多い。前述した第1群の抗生物質の全合成が一つも成功していないのはグリコシド合成の困難性によるものである。

グリコシド合成においては、anchimeric effect^{1a)}, anomeric effect^{1b)} とよばれる効果すなわち糖類のコンホーメーションに基づく効果が関与する。

II. 糖類の構造

糖類のコンホーメーションに関する知見は最近の NMR の解析によっていちじるしく進展した。糖類において水素原子間のスピ結合定数がそのなす角に依存することを初めて明らかにしたのは Lemieux ら²⁾ であって、その後いわゆる Karplus 曲線が計算された (図 2)。

Anet³⁾ による曲線が実験値とよく一致するので最も利用される。たとえば、グリコシド合成において中間物として重要なアセトクロール-D-グルコースの α -および β -体の NMR スペクトルを見るとアノメリック水素 (C-1 の水素) のシグナル (doublet) は、 α 型の方が β 型より 0.80 τ だけ低磁場に現われる。ところで、これらの doublet の spacing が重要なデータである。 β 型においては 7.5 c.p.s. の spacing を示し、これは C-2 の水素との dihedral angle が約 180° に近いことを示す、すなわち *trans* 配置をとっている。他方、 α 型では spacing は 3.5 c.p.s. であり、C-1 と C-2 の水素が約 60° に近いことを示し、*gauche* 配置をとっていることがわかる。

図 2 NMR スペクトル (アセトニトリル中)

遊離糖が水溶液中で mutarotation を起こして α と β 型の平衡にあることはよく知られるところであるが、アグリコンが大きな原子団であるとエクアトリアル配座よりもアクシアル配座が安定であることがコンホーメーション解析によって推論されていた⁴⁾ が、近時、NMR による研究によって実際にコンホーメーションを確かめることができるようになった。すなわち、アルドピラノースにおいてアグリコンが acyloxy, alkoxy あるいはハロゲンの場合に β 型のエクアトリアル配座よりも α 型のアクシアル配座の方が安定であることが明らかになった⁵⁾。この種の現象は近時 “anomeric effect” と称され

る⁹⁾ (図 3)。この現象はシクロヘキサン環に見られる立体化学的考察に反するのであって、糖類における上述の特異性はピラノース環中のヘテロ原子 (酸素) の存在による双極子相互作用に基づくものである。

図 3 Anomeric Effect

図 4 アルキル 2-デオキシピラノシドのアノメリゼーション

最も簡単な例は 2-deoxy-β-D-glucopyranose tetraacetate であって、過塩素酸を触媒として加えた酢酸-無水酢酸溶媒 (1:1) 中で急速に α-アノマーに変転し、収率 90% を示す⁶⁾ (図 4)。

ピラノース環における C-5 の置換基の anomeric effect など詳細に研究されている⁷⁾。

糖類の安定構造はそのコンホメーションから考察されるように、水酸基の配座、水酸基の水素を置換した置換基の性質と位置によって変化する。これらの影響に関しては近時多くの研究がある。

天然グリコシドの構造になるともっと複雑になる。代表的な例はカナマイシン、パロモマイシン、ネオマイシンなどである。ネオマイシンとパロモマイシンは大体類似の骨格を有している。いずれもデオキシストレプタミン (deoxystreptamine) を含んでいるが、デオキシストレプタミンの C-4 と C-6 のいずれにどの糖が結合しているか、すなわち糖の絶対配置が問題となった (図 6 参照)。

カナマイシンの構造は糖類抗生物質の中でストレプトマイシンについて明らかにされたものであり、全メチル化法によってアミノ糖がデオキシストレプタミンの C-4 と C-6 に結合していることを決定した (梅沢ら, 1958 年)⁸⁾ すなわち、カナマイシンのすべてのアミノ基をアセチル化し、さらにすべての水酸基をメチル化してから加水分解すると、5-O-methyldeoxystreptamine が得られ、本物質が光学的不活性であることなどからデオキシストレプタミンの C-4 と C-6 にアミノ糖が結合していることが結論された。ネオマイシンとパロモマイシンでは類似の方法によって 6(or 4)-O-methyldeoxystrept-

amine が得られ、本物質が右旋性であったことから C-4 と C-5 か、または C-5 と C-6 に糖が結合していることが結論された (K.L. Rinehart et al., 1963 年)⁹⁾。

このような糖の絶対配置の解明には Reeves の cuprammonium complex 法が役にたつのである。Reeves によれば、銅錯体を形成させると、糖分子中の相隣る 2 箇の水酸基の相対的配置によって、 $4[M]_{436}$ が規則的にいじりく変化するのである (Reeves, 1951 年)¹⁰⁾。

Rinehart ら⁹⁾ は Reeves のこの方法を適用してネオマイシン、パロモマイシン中の糖の絶対配置を美事に推定し、立岡ら (1964 年)¹¹⁾ もカナマイシン中の糖の絶対配置を推定した。

著者ら (1965 年)¹²⁾ もカナマイシンの絶対構造を究明していたが、やや異なった方法で同一の結論に到達した。Reeves の方法は 2 箇の水酸基の配座の相互関係を規則づけており、これをアミノ糖に適用するにはアミノ基をアシル化しておく必要があるが、相隣る水酸基とアミノ基の間に規則性を見いだすならば直接アミノ糖に適用できて、アミノ糖の絶対構造の研究に役だつと考えられるのでこの研究を進めたのである。Reeves は “Cupra B” と称する cuprammonium 溶液を使用した。著者らは tetramminecopper (II) sulfate 溶液 (TACu と略称) を使用して $4[M]_{TACu}$ を測定して目的を達することができた*。

$$4[M]_{TACu} = ([\alpha]_{436} \text{ TACu 溶液} - [\alpha]_{436} \text{ 水溶液}) \times \frac{\text{Mol. Wt}}{100}$$

$$4[M]_{Cupra B} = ([\alpha]_{436} \text{ Cupra B 溶液} - [\alpha]_{436} \text{ 水溶液}) \times \frac{\text{Mol. Wt}}{100}$$

Newman 投影式において、六員イス型分子中の C-1 と C-2 の投影角が counterclockwise に 60° であるとき $4[M]_{436} \text{ TACu}$ は約 +1000 を示し、clockwise であるとき約 -1000 を示す (図 5 参照)。C-1, C-2 に相隣る水酸基 2 箇を有する場合には $4[M]_{436} \text{ TACu}$ は約 0 である。しかるに、 $4[M]_{436} \text{ Cupra B}$ は、C-1, C-2 に相隣るアミノ基と水酸基が存在する場合、相隣る水酸基 2 箇が存在する場合のいずれの場合においても counterclockwise であれば + であり、前者の場合に約 +1000、後者の場合に約 +2000 を示すのである。なお -CH(OH)-CH(OH)-CH(NH₂)- の如き場合には相隣る水酸基間と、相隣る水酸基とアミノ基の間の 2 種の組合せでどちらに錯体形成が起こるかが興味あることであるが、TACu を使用するときは後者が優先し、Cupra B を使用する

* TACu は 0.1M 試料溶液に tetramminecopper (II) sulfate 16 倍 M を使用。

るときは前者が優先する。例を 図 5 に示した。

図 5 アミノ糖誘導体の $d[M]$

カナマイシンから加水分解によってまず 6-アミノ-6-デオキシ-D-グルコースを除去し、N-アセチル化し、全メチル化（このときアセタミド基の水素原子もメチル化される）し、最後に加水分解して得た 4,5-O-dimethyl

-N,N'-dimethyldeoxystreptamine (図 5 例 6) は $d[M]_{TACu} + 1100$, $d[M]_{CuprAB} + 1110$ を示した。したがって、水酸基とメチルアミノ基の関係は counterclockwise であり、カナマイシンにおいては 3-アミノ-3-デオキシ-D-グルコースがデオキシストレプトアミンの C-6 に、6-アミノ-6-デオキシ-D-グルコースが C-4 に結合していることを推定でき、カナマイシンの絶対構造が明らかになった。

図 6

III. 構造と抗菌性

糖類抗生物質の構造と抗菌性についてはほとんど知られていなかった。それは糖類抗生物質の構造が複雑であることと、その合成もまた困難であることによると考えられる。

カナマイシンは糖類抗生物質中で構造的に秩序に最も富む化合物であり、したがって構造と抗菌性の関係を解析する目的に恰好であると考えられたので、著者らは関連化合物を合成し、あるいはカナマイシンの分解産物を単離して、構造と抗菌性の関係を究明した。

4,6-di-O-(3-amino-3-deoxy- β -D-glucopyranosyl)-deoxystreptamine¹³⁾, 4,6-di-O-(6-amino-6-deoxy- β -D-glucopyranosyl)-deoxystreptamine¹³⁾, 4,6-di-O-(D-glucopyranosyl)-deoxystreptamine¹⁴⁾ を合成したがこれらは抗菌力を有しない。しかるに、カナマイシンを部分的加水分解して単離した 4-O-(6-amino-6-deoxy- α -D-glucosyl)-deoxystreptamine¹⁵⁾ (図 7) が *M. pyogenes* var. *aureus* 209p あるいは *B. subtilis* などの発育を 50mcg./ml. の濃度で完全に阻止することを知った。若沢, 深津ら¹⁶⁾はまた、パロモマイシンを部分的加水分解して単離したパロマミン (paromamine) すなわち、

4-O-(6-Amino-6-deoxy- α -D-glucosyl)deoxystreptamine

図 7

4-O-(2-amino-2-deoxy- α -D-glucopyranosyl)-deoxy streptamine が弱い抗菌力を有することを認めた (図 7 参照)。

これらの結果と糖類抗生物質自体の構造を Dreiding 分子模型によって考察すると、抗菌力を現わすためにはアミノ基の立体配置が重要な因子であり、 α -グリコシド結合が重要な役割を果たしていることが推察される。

この推論を確かめるために、著者ら¹⁷⁾は種々のアミノ糖とデオキシストレプタミンを acid reversion によって縮合させ、反応液を bioautography にかけて抗生物質を検索する方法を試みたのである。その結果、まだ知られていない多くのデオキシストレプタミン・グリコシド類が抗菌力をもつことを見いだした。

そこで、これらのデオキシストレプタミン・グリコシド類の一つを単離し、前記パロマミンの異性体と考えられる 5-O-(2-amino-2-deoxy- α -D-glucopyranosyl)-deoxystreptamine を得て、本物質が *Mycobacterium tuberculosis* 607 の発育を 6 mcg./ml. で完全に阻止することを見いだした。この物質とパロマミンは D-グリコサミンの結合位置が異なるのであるが、抗菌スペクトルはいちじるしく相異なる (図 7, 表 1)。

表 1 5-O-(2-Amino-2-deoxy- α -D-glucosyl)-deoxystreptamine (5-O-2AD), 4-O-(6-Amino-6-deoxy- α -D-glucosyl)-deoxystreptamine (4-O-6AD) および Paromamine の発育完全阻止最小濃度*

試 験 菌	5-O-2AD	4-O-6AD	Paromamine
<i>B. subtilis</i>	>250	50	125
<i>M. pyogenes</i> var. <i>aureus</i> 209p	>250	50	>1000
<i>E. coli</i> NIH	>250	1,000	500
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> 607	6	200	>1000

* mcg./ml

IV. α -グリコシドの合成について

上述の acid reversion による 5-O-(2-amino-2-deoxy- α -D-glucosyl)-deoxystreptamine の合成は、抗菌性グリコシドを合成した最初のものである。

さて、 α -グリコシドの合成法¹⁸⁾としては、

- 1) Fischer 法 (acid-catalyzed alcoholysis)
- 2) Koenig-Knorr 反応
- 3) Dithioacetal に水銀塩の存在下にアルコールを作用させる方法
- 4) 1,2-無水物 (Brigl's anhydride) とアルコールの反応
- 5) Transglycosidation (TiCl_3 , BF_3 などを使用して β 型を α 型に変転)

などが主要な方法であるが、アミノ糖から α -グリコシドを合成するには 1), 2), 4) などを利用できる可能性があり、5) はアグリコンが大きな原子団である場合には困難である。これらの諸方法のうち最も利用しやすい方法 2) において常に、 α -グリコシドを目的としても β -体の生成をとめない、一般に β 体の合成は容易であるが、 α 体を合成することはしばしば困難である。この困難性は前述の anchimeric effect に因るものである。

アセトハロゲン糖にアルコールを反応させる方法はグリコシド合成の常法であるが、この反応を簡単に考えると $\text{S}_{\text{N}}2$ 反応にしたがって、たとえば β -アセトハロゲン糖からは α -グリコシドが得られると考えられるが、実際には C-2 のアセチル基が関与して 1,2-orthoacetate が生成する。しかるに、C-2 にトリクロルアセチル基を導入しておく α -グリコシドが得られる。これはトリクロルアセチル基の低い求核性に基づくものと考えられている¹⁹⁾ (図 8)。これは Koenig-Knorr 反応による α -グリコシド合成の一つの方法となった。

図 8 Anchimeric Effect

アミノ糖とデオキシストレプタミンのグリコシド化に

においても α 体の合成は容易でない。上述したように、acid reversion によってわずかながら α -グリコシドを得たが、本法は Fischer 法の変法と見るべきである。

最も適用しやすい反応は Koenig-Knorr 反応である。この反応を行うにはアセトハロゲン糖が必要である。したがって、著者らは種々のアミノ糖のアセトハロゲン誘導体²⁰⁾をまず合成し、これをデオキシストレプタミンのアミノ基2箇所を保護したものと Koenig-Knorr 反応によって縮合させる方法を試みたのである。アミノ糖のアセトハロゲン誘導体もアミノ基を保護しておく必要があり、この保護基の anchimeric effect が考慮されねばならない。

たとえば、D-グルコサミンをデオキシストレプタミンとグリコシド化させる場合に、両者のアミノ基を種々の保護基で置換して試みたが、ほとんどの場合に β -グリコシドのみが生成した。しかるに、保護基としてジニトロフェニル基を導入した場合に α -グルコシドが得られることを見いだした。この合成過程を図 9 に示す。ジニトロフェニル基は糖環に垂直の平面をなし、アノメリック中心に影響が少なく、縮合後に除去することが容易である。

図 9 には 3,4,6-tri-O-acetyl-2-deoxy-2-(2,4-dinitrophenylamino)- α -D-glucopyranosyl bromide (1) と N,N'-bis(2,4-dinitrophenyl)-deoxystreptamine (2) から 5-O-(2-amino-2-deoxy- α -D-glucosyl)-deoxystreptamine (5, 前述 acid reversion によって得られたものと同一物質 図 7 参照) を合成²¹⁾する過程を示したが、最近著者らはさらに、(1) と (2) とからの反応生成物の中からパロマミン (図 7 参照) を単離²²⁾することができた。これで初めて天然抗菌性グリコシドを合成できた

わけである。

著者らが本法を試みるにいたった理由は、Lloyd, ら²³⁾が糖の C-6, C-2 のアセチル基の極性効果が α, β 体の生成に影響することを述べていることに示唆を受けたからである (図 10 (1))。

図 10

抗菌性糖誘導体としても一つ合成されているのは、6-amino-6-deoxy-D-glucose と deoxystreptamine の 1,2-diorthoester である (図 10 参照)。本物質は Lemieux ら (1963 年)²⁴⁾によって報告され、Gram 陽性菌を 50~25 mcg/mL で阻止する。本物質は diorthoester であるが、カナマイシンとアミノ基の立体配置が近縁であるので、構造と抗菌性の関係上、興味ある物質である。

本稿は第61回有機合成化学講演会における講演に少し加筆したものである。

本稿を終えるにあたり、著者の研究に協力された伊藤幸雄博士、土屋務博士、深津俊三、厚東伸信、竜田邦明、藤田弘の諸氏に感謝したい。

(昭和 40 年 10 月 25 日受理)

文 献

- 1a) R.U. Lemieux, "Some Implications in Carbohydrate Chemistry of Theories Relating to the Mechanisms of Replacement Reaction" *Advances in Carbohydrate Chem.*, vol 9, 1 (1954), Academic Press
- 1b) R.U. Lemieux, "Rearrangements and Isomerizations in Carbohydrate Chemistry" in "Molecular Rearrangements", Part 2, edited by Paul de Mayo, Interscience (1964)
- 2) R.U. Lemieux, R.K. Kullnig, H.J. Bernstein, W.G. Schneider, *J. Am. Chem. Soc.* **79** 1005 (1957); *ibid.* **80** 6098 (1958)
- 3) F.A.L. Anet, *Can. J. Chem.* **39** 789 (1961)
- 4) O. Hassel, B. Ottar, *Acta Chim. Scand.* **1** 929 (1947); J.T. Edward, *Chem. & Ind. (London)* **1955** 1102; D.H.R. Barton, R.C. Cookson, *Quart. Revs.* **10** 44 (1956)

図 9 5-O-(2-Amino-2-deoxy- α -D-glucosyl)-deoxystreptamine の合成²¹⁾

- 5) R.U. Lemieux, N.J. Chü, Abstracts of Papers, *Am. Chem. Soc.* **133** 31N (1958)
- 6) W.A. Bonner, *J. Am. Chem. Soc.* **83** 962 (1961)
- 7) Ref.1b) p. 740
- 8) S. Umezawa, Y. Ito, S. Fukatsu, *J. Antibiotics* **A11** 162 (1958); *Bull. Chem. Soc. Japan* **32** 81 (1959)
- 9) M. Hichens, K.L. Rinehart, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **85** 1547 (1963)
- 10) R.E. Reeves, *Advances in Carbohydrate Chem.* **6** 107 (1951)
- 11) S. Tatsuoka, S. Horii, K.L. Rinehart, Jr., T. Nakabayashi, *J. Antibiotics* **A17** 88 (1964)
- 12) S. Umezawa, T. Tsuchiya, K. Tatsuta, *Bull. Chem. Soc. Japan* in press (1966); 日本化学会第18年会講演, 要旨集 p. 223 (1965)
- 13) S. Umezawa, S. Koto, *Bull. Chem. Soc. Japan* **38** 1447 (1965)
- 14) S. Umezawa, Y. Ito, *ibid.* **34** 1540 (1961)
- 15) S. Umezawa, T. Tsuchiya, *J. Antibiotics* **A15** 51 (1962)
- 16) T. Wakazawa, S. Fukatsu, *J. Antibiotics* **A15** 225 (1962); T.H. Haskell, J.C. French, Q.R. Bartz, *J. Am. Chem. Soc.* **81** 3480 (1959)
- 17) S. Umezawa, T. Tsuchiya, H. Fujita, *J. Antibiotics* **A17** 181 (1964)
- 18) 総説としてたとえば“The Carbohydrates” edited by W. Pigman, p.190 Academic Press. (1957)
- 19) W.I. Hickinbottom, *J. Chem. Soc.* **1928** 3140 (1928); R.U. Lemieux, C.D.T. Ciperia, *Can. J. Chem.* **34** 906 (1956)
- 20) S. Umezawa, Y. Ito, S. Koto, *Bull. Chem. Soc. Japan* **35** 1618 (1962); *ibid.* **36** 183 (1963)
- 21) S. Umezawa, S. Koto, *J. Antibiotics* **A17** 186 (1964)
- 22) S. Umezawa, S. Koto, *Bull. Chem. Soc. Japan* in press (1966)
- 23) T.F. Lloyd, G.P. Robert, *J. Chem. Soc.* **1963** 2962
- 24) R.U. Lemieux, *Chemical Institute of Canada, Medal Lecture* **1964** p.7

次 号 予 定

昭和40年度有機合成化学協会賞受賞者記念講演

有機合成化学反応の理論的研究……………北 条 卓

高純度テレフタル酸の製造および直接重合によるポリエステル製造法の工業化……………桜井 亮一
小方 和夫

総 説

β -シアノプロピオンアルデヒドとその合成化学……………元 木 信 一

コレステリンおよび誘導体の最近の化学……………塩田 三千夫

活性テルペノイドクロマン (その 2) ……………貴 島 静 正

報 文

α, β -不飽和カルボニル化合物と塩化ビニルのグリニャール反応について……………須賀 恭昭 一他
渡辺 良澄

1, 2, 3, 4-テトラクロルアントラキノンからの分散染料……………森 禎 良他
平 井 久 澄

2, 3-ジクロルアントラキノンからの分散染料……………森 禎 良他
永 田 公 男

溶液中におけるクロルエチル遊離基の反応……………右 田 俊彦 他
小 林 正 紀

資 料

アイオマーについて……………栗 田 清

水溶性塗料用樹脂……………古 谷 昭夫
林 正 明

業 界 情 勢

ゴム薬品工業界の展望……………林 克 弘

文献紹介, その他