1, 4-ジアミノシクリトール抗生物質の発展

近 藤 信 一*・池 田 大 四 郎*

Horizon in 1,4-Diaminocyclitol-Aminoglycoside Antibiotics.

Shinichi KONDO* and Daishiro IKEDA*

Several 1,4-diaminocyclitol-containing aminoglycoside antibiotics have been discovered by four Japanese research groups during the past five years. Fortimicin A, C, D and KG₃ produced by *Micromonospora*, sporaricin A and C by *Saccharopolyspora*, istamycin A, B, C and A₂, 2''-N-formimidoylistamycin A and B by *Streptomyces*, and dactimicin by *Dactylosporangium* inhibit strongly the growth of Gram-positive and -negative bacteria including most aminoglycosides-resistant strains. These antibiotics are pseudodisaccharides consisting of a diaminosugar and a 1,4-diaminocyclitol acylated with glycine at the 4-methylamino group. Fortimicin A and some derivatives of this group antibiotics have been evaluated their clinical usefulness. In this review, chemical studies and structure-activity relationships of the 1,4-diaminocyclitol-aminoglycoside antibiotics are discussed.

1. はじめに

ストレプトマイシンやカナマイシンで代表されるアミノ配糖体抗生物質は、ベータラクタム抗生物質とならんで人類を細菌の感染症による恐怖から解放した。そして、わが国における結核の撲滅に対する寄与は特筆に価する。また、最近ではアミノ配糖体抗生物質の誘導体が緑膿菌を含む耐性菌の対策に欠くことのできない化学療法剤となっている。化学療法剤として有用なアミノ配糖体抗生物質は、すべて1,3-ジアミノシクリトールの誘導体を含む配糖体で占められている。すなわち、ストレプトマイシンに含まれるストレプトチジン(1)、スペクチノマイシンに含まれるアクチナミン(2)およびカナマイシンやネオマイシンに含まれる2-デオキシストレプタミン(3)などである。なかでも3を含む抗生物質群に属する有用物質が数多く発見されている。そして、この群の抗生物質が共通の不活性化酵素によって不活性化される耐性機構が解明された^{1,2)}。1972年以来、これらの耐性機構にもとづき耐性菌に有効なカナマイシンなどの誘導体の合成研究がスタートし、ジベカシンやアミカシ

ンは化学療法剤としてすでに高い評価を得ている^{1,2)}。

1977年、協和醸酵の奈良ら^{3,4)}は *Micromonospora olivoasterospora* が生産する新しい型のアミノ配糖体抗生物質を発見し、ホーチミシン(4)と命名した。そして共同研究者である米国 Abbott 社の Egan ら⁵⁾によってその構造が決定された。1979年にいたり、興和の出牛ら⁶⁻⁸⁾によって *Saccharopolyspora hirsuta* subsp. *kobensis*⁷⁾ の生産するスポラリシンA(5)、微化研の岡見ら⁹⁾によって *Streptomyces tenjimariensis*¹⁰⁾ の生産するイスタマイシンA(6)およびB(7)、興和の出牛ら^{11,12)}によって *Streptomyces sannanensis*¹³⁾ の生産するサンナマイシンA(構造決定の結果6と同一物質であった)、さらに明治製菓の井上ら¹⁴⁻¹⁶⁾によって *Dactylosporangium matsuzakiense*¹⁵⁾ の生産する2''-

* 微生物化学研究所 ( )

* Institute of Microbial Chemistry ( )

N-ホルムイミドイルホーチミシン A (ダクチミシン) (8) が報告された。これらの抗生物質が、いずれも日本の土壌試料より分離された *Actinomycetes* に属する菌株によって生産され、いずれも日本の研究者によって発見されたことは興味あることである (最近 Abbott 社の研究者によってリジノミシン, lysinomycin が報告された^{17,18)})。これらの構造は、1,4-ジアミノシクリトールを含む擬二糖類でグリシンを有することが特徴であり、1,4-ジアミノシクリトール抗生物質またはホーチミシン群抗生物質と総称されている。この群の抗生物質は緑膿菌を除くグラム陽・陰性菌に強力な抗菌活性を示し、アミノ配糖体抗生物質を修飾する耐性菌の酵素でほとんど攻撃をうけず、それらの耐性菌に有効で、一般に聴器毒性が低い。4 はすでに広範な臨床試験が終了しており、5, 7, 8 およびそれらの誘導体のなかにも開発研究が行われているものがある。

このように、アミノ配糖体抗生物質の新しい素材として注目されている 1,4-ジアミノシクリトール抗生物質の化学的研究と構造-活性の相関について展望する。

		R ¹	R ²
Fortimicin A	(4)	H	CH ₃
Dactimicin	(8)	CH=NH	CH ₃
Fortimicin C	(21)	CONH ₂	CH ₃
N-Formylfortimicin A	(22)	CHO	CH ₃
Fortimicin D	(25)	H	H

		R ¹	R ²	R ³
Sporaricin A	(5)	H	CH ₃	H
Istamycin B	(7)	H	H	CH ₃
Istamycin B ₁	(14)	CHO	H	CH ₃
2''-N-Formimidoyl-istamycin B	(20)	CH=NH	H	CH ₃
Sporaricin C	(23)	CONH ₂	CH ₃	H
Sporaricin D	(24)	CHO	CH ₃	H

		R ¹	R ²
Istamycin A (Sannamycin A)	(6)	H	CH ₃
Istamycin C ₁	(13)	CHO	CH ₂ CH ₃
Istamycin A ₁	(15)	CHO	CH ₃
Istamycin A ₂	(16)	CONH ₂	CH ₃
Istamycin C	(17)	H	CH ₂ CH ₃
2''-N-Formimidoyl-istamycin A	(19)	CH=NH	CH ₃

Fortimicin KG₃ (26)

2. 精製単離

1,4-ジアミノシクリトール抗生物質は、*N*-グリシルメチルアミノ基を有しており、アルカリ性で不安定で、容易に脱グリシル化がおこる。従って、培養後期や精製中の pH に注意をしないと抗菌力がきわめて弱い (普通もとの抗生物質の 1% 以下) 脱グリシル体が副生する。これらの脱グリシル体は、ホーチミシン B (9), スポラリシン B (10), サンナマイシン B (11 と同一物質) などと呼ばれているが、イスタマイシンでは A₀ (11) および B₀ (12) と命名されている。

ホーチミシン⁴⁾, スポラリシン⁶⁾, イスタマイシン^{9,19)}, サンナマイシン¹¹⁾ の各生産菌の培養ろ液からアンバーライト IRC-50 (NH₄⁺) のカラムに吸着させ、0.5-1 *N* アンモニア水で溶出し、減圧濃縮してそれぞれ各成分を含む粗粉末を得た。つぎに、活性炭 (0.2 *N* 硫酸で溶出), シリカゲル (クロロホルム-2-プロパノール-17% アンモニア水, 2:1:1 の下層で溶出), セルロース (クロロホルム-メタノール-17% アンモニア水, 2:1:1 の下層で溶出), または CM-セファデックス C-25 (NH₄⁺, 0.1-0.5 *N* アンモニア水によるグラジエント溶出) などのクロマトグラフィーを行って各成分を分離精製した。

イスタマイシン生産菌の培養ろ液中の各成分をアンバーライト IRC-50 (NH₄⁺) のカラムに吸着させ、0.84 *N* アンモニア水で溶出し、濃縮乾固して粗粉末を得た。これをアンバーライト CG-50 (NH₄⁺) のカラムに吸着させ、0.1-0.8 *N* アンモニア水によるグラジエント溶出を行い、イスタマイシン C₁ (13), B₁ (14), A₁ (15), A₂

(16), C (17), C₀ (18), B (7), A (6), A₀ (11) および B₀ (12) の順に溶出した。各成分を含む分画は適宜合して、クロホルム-メタノール-8.5% または 17% アンモニア水 (2:1:1) で溶出するシリカゲルのクロマトグラフィーで精製し、各成分を遊離塩基または炭酸塩として単離した¹⁹⁾。

井上ら^{14,16)} は, *Dactylosporangium matsuzakiense* の培養液からアンバーライト IRC-50 (Na⁺) のカラムに吸着させ、0.4 N 塩酸で溶出し、活性炭カラムによる脱塩、CM-セファデックス C-25 (Na⁺, 0.5 M 塩化ナトリウムで溶出) のクロマトグラフィーなどを繰返して 8 を硫酸塩として単離した。8 の N-ホルムイミドイル基は、塩基性できわめて不安定で、容易に脱離する。

筆者ら²⁰⁾ は、イスタマイシン生産菌の培養液中の抗生物質をアンバーライト CG-50 (70% Na⁺) のカラムに吸着させ、0.25 N 硫酸で溶出した溶液を、Waters 206 A コンパクトシステムに接続したラジアルパック C18 カラム (0.5×10 cm, 10 μ) に注入し、0.3 M 硫酸ナトリウムと 0.005 M PIC B7 (Waters 製 1-ヘプタンスルホン酸) を含んだ 5% メタノール水で展開 (1 ml/分) する高速液体クロマトグラフィーで分析した (0.05 M ホウ酸ナトリウム-0.006 M オルト-フタルアルデヒドを含む 2-メルカプトエタノールを加え、340 nm で励起し、425 nm でケイ光を測定)。その結果、6 (6.51 分) および 7 (7.75 分) のピークはほとんど認められず、リテンションタイム 8.71 分および 10.50 分に新しいピークが出現した。これらのピークは、それぞれ合成して得られた 2"-N-ホルムイミドイルイスタマイシン A (19) および B (20) のピークと一致した。そこで、*Streptomyces tenjimariensis* の培養液から、抗生物質をアンバーライト IRC-50 (70% Na⁺) のカラムに吸着させ、1 N 塩酸で溶出した。これにカウンターイオンとして過剰の α -トルエンスルホン酸ナトリウムを添加し (pH 5.0)、ダイヤイオン HP-20 のカラムにかけて吸着させ、5~

15% のメタノールを含む 10⁻⁵ N 塩酸で順次溶出して 19 と 20 を分離した。それぞれの分画をアンバーライト CG-50 カラム (Na⁺, 0.25 N 硫酸で溶出)、活性炭カラム (0.005 N 硫酸で溶出) およびアンバーライト IRA-400 カラム (SO₄²⁻, 水で展開) で処理して、19 および 20 をそれぞれ硫酸塩として単離した。従って、8 の場合と同様に、イスタマイシンは 2"-N-ホルムイミドイル体として培養液中に蓄積されていることが証明された。筆者らは、19 および 20 を弱いアルカリで処理すると、脱ホルムイミドイル体 [A (6) および B (7)] のほかに、N-ホルミル体 [A₁ (15) および B₁ (14)] および N-カルバモイル体 [A₂ (16)] を生成することを確認した。ホーチミシン生産菌の培養液から 2"-N-カルバモイル体であるホーチミシン C^{21,22)} (21) および 2"-N-ホルミルホーチミシン A²³⁾ (22) が、またスポラリシン生産菌の培養液からスポラリシン C (N-カルバモイル体) (23) および D (N-ホルミル体) (24) が分離されている²⁴⁾ ことは、これらを 2"-N-ホルムイミドイル体の生合成の中間体として考えるよりもむしろ分解物として考える方が至当であろう。

また、ホーチミシン生産菌の培養液より 6' 位にメチル基をもたないホーチミシン D^{21,22)} (25) および 4', 5' が不飽和であるホーチミシン KG₃ (26) が得られている。

これらの 1,4-ジアミノシクリトール抗生物質の生産菌は、上述の有効物質の脱グリシル体を含めて 24 種にのぼる擬二糖類を生産している (表 1, 表 2)。また、3-O-デメチル-1-N-グリシルホーチミシン B (ホーチミシン AN) (48) や 2'-N-グリシルホーチミシン B (イソホーチミシン) なども分離されている²⁶⁾。これらは 1,4-ジアミノシクリトール抗生物質から、さらに変換してきたものではないとしても、それらの生合成の中間体であるか、または別の二次代謝産物であるかという生合成における興味が今後に続くであろう。

Table 1 Pseudodisaccharides produced by fortimicin-producing strains.

Sugar Cyclitol	34	35	36	37	38	39	40
27	FT-B (9)	FT-KE	—	—	FT-KG ₂	FT-KF	FT-AH
28	—	—	FT-AK	—	FT-KG	—	FT-AI
29	FT-AM	—	—	—	—	—	—
30	FT-E	—	—	—	FT-KG ₁	—	—
31	FT-AP	—	—	FT-AO	FT-AL	—	—
32	FT-AQ	—	—	—	—	—	—
33	FT-AS	—	—	—	—	—	—

FT: Fortimicin components^{25,26)}.

Table 2 Pseudodisaccharides produced by sporaricin-, istamycin- and sannamycin-producing strains.

Sugar	34	35	46	47
Cyclitol				
41	SR-E	—	IS-A ₀ (11) SN-B	IS-C ₀ (18)
42	—	IS-X ₀	—	—
43	—	IS-Y ₀	—	—
44	—	—	SN-C	—
45	SR-B (10)	—	IS-B ₀ (12)	—

SR : Sporaricin component^{8,79)},

IS : Istamycin component^{19,27)},

SN : Sannamycin components^{12,28)}.

R ¹	R ²	R ³	R ⁴
27	H	OCH ₃	H
28	H	OCH ₃	NHCH ₃
29	H	OH	NHCH ₃
30	OCH ₃	H	NHCH ₃
31	OH	H	NHCH ₃
32	H	OH	N(CH ₃) ₂
33	H	OCH ₃	H

R ¹	R ²
34	CH ₃
35	H
46	H
47	CH ₂ CH ₃

R ¹	R ²
36	H
37	OH

38	CH ₃
39	H

R ¹	R ²	R ³	R ⁴
41	H	OCH ₃	H
42	H	OCH ₃	NHCH ₃
43	OCH ₃	H	NHCH ₃
44	OCH ₃	H	H

Fortimicin AN (48)

3. 構造決定

1,4-ジアミノシクリトール抗生物質の構造決定には、NMR および MS などのスペクトル解析がきわめて有効である。しかし、アミノシクリトールおよびアミノ糖部分の絶対構造は、メタノリシスによってそれらを単離し、旋光性などの性状によって決定されるのが常法である。ここでは Egan ら⁵⁾ の 4, 出牛ら⁸⁾ の 5 および筆者ら¹⁹⁾ の 6 と 7 の構造決定について述べる。9 およびそのアミノシクリトールの構造については X 線結晶解析の報告がある^{29,30)}。

4 をアルカリ加水分解すると 9 が得られ、塩酸加水分解によりグリシンの存在が確認された⁹⁾。1,4-ジアミノシクリトール抗生物質の大部分は、EI-MS スペクトルで M⁺ または (M+1)⁺ を与え、シクリトールおよびアミノ糖部分の開裂パターンが明確に得られるのが特徴である。4 においては (表 3), m/z 406 に (M+1)⁺, 405 に M⁺ を示し、143 によりデオキシアミノ糖の存在がわかり、さらに 292, 274, 264 および 246 にアシル化されたアミノシクリトールに典型的な開裂を示し、9 のそれと比較してグリシンはアミノシクリトール部分に結合していることが判明した。

9 の ¹H-NMR スペクトル (重水中) は 1 個のアノメリックプロトン (δ 5.50) の存在を示し、そのカップリング定数 (J=3.8 Hz) よりアミノ糖はシクリトールと

Table 3 Significant mass spectral fragmentation of fortimicin A free base⁵⁾.

m/z	Formula	Assignment
406	C ₁₇ H ₃₆ N ₅ O ₆	(M+1) ⁺
405	C ₁₇ H ₃₅ N ₅ O ₆	molecular ion
388	C ₁₇ H ₃₂ N ₄ O ₆	M ⁺ - NH ₃
370	C ₁₇ H ₃₀ N ₄ O ₅	M ⁺ - NH ₃ - H ₂ O
362	C ₁₅ H ₃₀ N ₄ O ₆	M ⁺ - C ₂ H ₅ N
292	C ₁₁ H ₂₂ N ₃ O ₆	HO > C=O ⁺ -b
274	C ₁₁ H ₂₀ N ₃ O ₅	m/e 292 - H ₂ O
264	C ₁₀ H ₂₂ N ₃ O ₅	H > O ⁺ -b
246	C ₁₀ H ₂₀ N ₃ O ₄	b
143	C ₇ H ₁₅ N ₂ O	a
126	C ₇ H ₁₃ NO	a - NH ₃

α -Dあるいは α -Lグリコシド結合していると推定された。さらにO-メチル、N-メチルおよびC-メチル基が1個ずつ存在し、デカップリング操作などでそのアミノ糖は2,6-ジアミノ-2,3,4,6,7-ペンタデオキシヘプトピラノース、すなわちプルプロサミンB (purpurosamine B) あるいはその異性体であり、またアミノシクリトールは1-アミノ-4-メチルアミノ-1,4-ジデオキシ-*chiro*-イノシトールであることが強く支持された。このアミノシクリトールはホータミン (fortamine, 27 においてsugar=Hの構造) と命名された。グリシンの結合位置は、4および9の ^1H -NMRスペクトルを比較し、N-メチル基のケミカルシフトの変化からホータミンの4位のメチルアミノ基であると決定した。さらに、 ^{13}C -NMRスペクトルの詳細な検討によりアミノ糖はホータミンの6位の水酸基にグリコシド結合していることがわかった。

つぎに4および9の絶対構造の決定のために、9をN-アセチル化し、メタノリシス後再びN-アセチル化して2個のメチルグリコシド(α および β 体)を得た。またメタノリシスのかわりにメルカプトリシスを行い、ジチオアセタールを得た。これらのメチルグリコシドおよびジチオアセタールを、ゲンタミシン C_2 から得られるメチルグリコシドおよびジチオアセタールと比較して9のアミノ糖は6-エピ-プルプロサミンB(2,6-ジアミノ-2,3,4,6,7-ペンタデオキシ-L-*lyxo*-ヘプトピラノース⁸⁾)であると決定した。また9をCupra A溶液³¹⁾中でCDスペクトル³²⁾を測定し、6(R)配置であると決定した。

9の構造において興味深いことは、ホータミンの立体配座が反転しやすいことである(9aおよび9b)。これ

はアルカリ性および酸性の重水溶液中における ^1H -NMRスペクトルの解析によって明らかにされ、11においても同様の現象が認められている。

5および10の構造決定⁸⁾は4および9の場合と同様に行われ、ジアミノシクリトールの絶対構造はTACu法³³⁾により決定された。その結果、5の構造は4の2-デオキシ-1-エピ体であることがわかった。

また、6の構造は6-N-メチルプルプロサミンCが2-デオキシ-4-N-グリシルホータミンの6位の水酸基に α -グリコシド結合したものであり¹⁹⁾、アミノシクリトール部分の絶対構造は、上述のごとく2種類の立体配座で存在するため銅錯塩法では決定できなかったもので、つぎに述べる合成により決定した³⁴⁾。一方、7の構造においては、アミノシクリトールが5の場合と同じ1-エピ-2-デオキシホータミンであると決定された¹⁹⁾。

4. 合成

筆者らは6の絶対構造を決定するため、およびその誘導体を合成するために、3',4'-ジデオキシネアミン³⁵⁾(49)を出発物質としてその全合成を行った^{34,36)}。図1に

Fig. 1

The numberings of the 1,3-diaminocyclitol and 1,4-diaminocyclitol are based upon those of streptomycin and fortamine, respectively.

示すように49と11とは構造上類似し、合成的には49の1位のアミノ基と6位の水酸基を選択的に転位させることにより11の骨格が得られる。49から7工程を経て50を得た。その1位と6'位のアミノ基は、将来メチルアミノ基に誘導されるべく2'および3位のアミノ基とは異なる置換基で保護された。50を低温でナトリウムエチラートで処理して、本合成上重要な中間体であるアジリジン誘導体(51)を得た。これを安息香酸ナトリウムと反応させ、トランス-ジアキシャル開環した1,4-ジアミノシクリトール誘導体(52)をメシル体(50)から72%の収率で得た。以下図2に示すような反応を経て11を合成した。つづいてその4個のアミノ基およびメチルアミノ基のうち3個だけ部分保護し、残る4位のメチルアミノ基をグリシル化し、最後に脱保護して6を得た。これにより、6のアミノシクリトールは2-デオキシホータミンであることが確定された。なお本合成法は、6のデメチル誘導体の合成にも用いられた³⁷⁾。

須網ら³⁸⁾はグリコシド化反応により9を全合成した(図3)。すなわちD-グルコサミンから得られるグリコシルクロリド保護体(53)と、1,4-ビス-N-(ベンジルオキシカルボニル)ホータミン $\text{B}^{39)}$ から得られる54と

Fig. 2

a) ClCO_2Et , Na_2CO_3 /70% MeOH. b) Cbz-S, Et_3N /80% MeOH. c) NaH /DMF. d) DHP, TsOH /DMF. e) $\text{Ba}(\text{OH})_2$. f) ClCO_2Et , Na_2CO_3 /70% MeOH. g) $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$ /pyridine. h) NaOEt /THF, $-40 \sim -10^\circ\text{C}$. i) NaOBz /DMF, 100°C . j) NH_3 -MeOH. k) CH_2N_2 , $\text{AlCl}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2$. l) 70% AcOH-MeOH. m) H_2 /Pd. n) B_2H_6 -THF, 50°C . o) 3.1 eq. Cbz-S, Et_3N /MeOH. p) *N*-CbzGly-HOSu/dioxane. q) H_2 /Pd. Cbe: ethoxycarbonyl, Cbz: benzyloxycarbonyl, THP: tetrahydropyranyl, Ms: methanesulfonyl, Bz: benzoyl, DHP: dihydropyran, Cbz-S: benzyl *S*-4,6-dimethylpyrimidin-2-ylthiocarbonate

DNP: 2,4-dinitrophenyl

Fig. 3

をジオキサン中、トリフルオロメタンスルホン酸銀存在下縮合させて 37% の収率で 9 の保護体 (55) を得た。つづいて保護基を脱離して 9 を合成した。また、須網ら⁴⁰⁾は光学活性な 54 のかわりに、1,4-ジアジド-1,4-ジデオキシ-*muco*-イノシトール⁴¹⁾より出発して 54 の DL 体を合成し、ハロゲン糖 (53) と縮合して 55 を得た。

筆者らは 11 および 12 から 19 および 20 を合成した^{20,42)}。12 の 4 個のアミノ基およびメチルアミノ基を亜鉛錯体を利用して部分保護し、1,2',6'-トリ-*N*-Boc 体とした後、4 位のメチルアミノ基を *N*-Cbz-グリシンでアシル化した。つづいて Cbz 基をはずし、1,2',6'-トリ-*N*-Boc-イスタマイシン B を得た。これにエチルホルムイミデート塩酸塩⁴³⁾を作用させ、つづいて脱 Boc 化して 20 を得た。一方、11 をニッケル錯体を用いて

1,2',6'-トリ-*N*-Cbz 化し、以下 12 の場合と同様に反応をすすめ 19 を得た。また、同様の手法で 9 から 8 が合成された⁴⁴⁾。

5. 特有な反応

1,4-ジアミノシクリトール抗生物質の誘導体の合成は、すでに諸処で精力的に遂行されている。ここではアミノ配糖体抗生物質の誘導体の合成に用いられている一般的な反応については割愛し、この群の抗生物質に特有な反応について述べる。

ホーチミシン D (25) を 0.1 *N* 水酸化バリウム水溶液で処理したところ、ホーチミシン KE とグリシンのほかに、グリシンが転移した化合物を約 8% の収率で得た²²⁾。この反応をさらに検討し⁴⁵⁾、4 の硫酸塩を pH10 で 4 時間還流すると約 62% の収率で転移生成物が得られた。構造決定の結果、この転移化合物は 2' 位のアミノ基がグリシル化された化合物であった。そこでつぎの諸点から、図 4 に示すような転移の機構が提出された。a) アルカリ処理のとき、アラニンを添加しても 2'-*N*-アラル体得られないことから、転移生成物はグリシンの再結合体ではない。b) 5-*O*-ベンジルホーチミシン A はアルカリ性で非常に安定である。c) 5-*O*-ベンゾイルホーチミシン B (58) はアルカリ性で不安定で、pH 7.3 のリン酸緩衝液中でさえ、4-*N*-ベンゾイルホーチミシン B (56) を与え、この 56 を pH 12 の水溶液中で 2 日間放置すると、59 と 9 と 2'-*N*-ベンゾイルホーチミシン B (61) が約 1:2:1 の比で得られる。これは図 4 における中間体 58 から 57 への転換が 59 へのそれより大へん速いと考えられる。

Tadanier ら⁴⁶⁾も 4 および 4-*N*-アシルホーチミシン B のアシル転移について報告している。一方、Lartey ら⁴⁷⁾は 3-*O*-デメチルホーチミシン A をアンモニア水で処理し、1-*N*-グリシル-3-*O*-デメチルホーチミシン B (51%)、2'-*N*-グリシル-3-*O*-デメチルホーチミシン B (28%) および 3-*O*-デメチルホーチミシン B (19%) を得た。すなわち、3-*O*-メチル基が存在しないことにより 5-*O*-アシル中間体 (58) のとりうるコンホメーションが 2 つ (58 と 59 の OCH_3 が OH の場合) 存在することにより、1 位のアミノ基にもアシル転移がおこることを示した。

1,4-ジアミノシクリトール抗生物質の 3-*O*-デメチル化の反応は、はじめに 9 で試みられたが満足すべき収率が得られなかった⁴⁸⁾。しかし、3-*O*-デメチルホーチミシン A⁴⁹⁾が緑膿菌に対する抗菌力を増強することからこの反応が注目された。Martin ら⁴⁹⁾はエチルアミン-

Fig. 4

金属ナトリウムの方法⁵²⁾を検討して、9から3-O-デメチルホーチミシンBを約30%の収率で得た。渡辺ら⁵³⁾および筆者ら⁴²⁾は、通常の酸触媒によるエーテル結合の開裂反応を試み、グリコシド結合の開裂なしに好収率で3-O-デメチル体が得られることを見いだした。10を48%臭化水素酸中90℃で4時間反応させて3-O-デメチルスボラリシンBを約60%の収率で得た⁵³⁾。また、筆者らの実験で12を47%臭化水素酸中85℃6時間反応させて、3-O-デメチルイスタマイシンB₀が68%の収率で得られ、未反応の12が16%回収された。

筆者らは、前に述べた6の合成で11の4個のアミノ基およびメチルアミノ基を部分保護する際に、トリエチルアミンの存在下3.1当量のCbzの活性エステルを用いて収率56%で1,2',6'-トリ-N-Cbz-イスタマイシンA₀を得た³⁴⁾。また、Tadanierら⁵⁴⁾は9から種々の4-N-アシル誘導体を合成する際に、トリエチルアミンを使わないでもやや低収率ながら1,2',6'-トリ-N-Cbz体を得た。これらのことは4位のメチルアミノ基の反応性が低いことを示している。佐藤ら⁵⁵⁾は9についてその4個のアミノ基およびメチルアミノ基の反応性について詳しく調べ、その順序は、2'-NH₂>6'-NH₂>1-NH₂>4-NHCH₃であると報告した。筆者ら^{19,20)}は、ニッケル、亜鉛、コバルトなどの金属錯体^{56,57)}を用いて、イスタマイシン類のアミノ基の部分保護体を合成した。それぞれ基質により不適当な金属もあるが、上手にくみ合わせることにより70~85%の収率で1,2',6'-トリ-N-保護体得られることがわかった。出牛ら²⁸⁾もサンナマ

イシンCの4-N-グリシル体の合成に酢酸ニッケルを用いて錯体を形成し、部分保護体を得た。

6. 構造-活性の相関

1,4-ジアミノシクリトール抗生物質は、擬二糖類でありながらグラム陽・陰性菌に強い抗菌力を有する点が特徴的で、1や3を含む従来のアミノ配糖体抗生物質の構造-活性相関とは異なる点が多い。しかし興味あることは、この群の抗生物質の1位のアミノ基が、ゲンタミシンの3位のアミノ基をアセチル化する耐性菌の3-アセチル転移酵素I[AAC(3)-I]によって修飾され不活性化されることである⁵⁸⁾。そして、4や6のごとく1位のアミノ基がアクシアルの場合の方が、5や7のごとくエクアトリアルの場合よりアセチル化されやすいことが、AAC(3)-Iをもつ耐性菌に対する最低発育阻止濃度によって示されている。また、筆者らが合成した6'-N, 3-O-ジデメチルイスタマイシンA³⁷⁾が大腸菌K-12 R5株にきかないことから、6'位のアミノ基が6'-アセチル転移酵素1[AAC(6')-1]によってアセチル化されることがわかった。しかし、6'(S)-C-メチル基を有する4や5、また6'-N-メチル基を有する6や7はこの酵素によってアセチル化されず、大腸菌K-12 R5株の発育を阻止する。また、これら以外の耐性菌の酵素では一切修飾されないのが、この群の抗生物質の特徴である^{2,59)}。

1,4-ジアミノシクリトール抗生物質の抗菌性の発現に最も重要なことは、4位のN-メチル基の存在とそのアシル化である^{37,60)}。このN-メチル基は活性の発現に

必須であり、*N*-エチル基では抗菌性を失う⁶⁰⁾。さらに重要なことは、このメチルアミノ基のアシル化によって1,4-ジアミノシクリトールが¹C₄コンホマーとなることである。これは1,4-ジアミノシクリトールの置換基がすべてエクアトリアルで⁴C₁コンホメーションをとっていると考えられる4-*N*-グリシルホーチミシン^{E61)}がきわめて弱い抗菌力しか示さないことでもわかる。この4-メチルアミノ基のアシル基としては、天然にえられているグリシル基およびホルムイミドイルグリシル基の場合が最も良い抗菌力を示している。8は4に匹敵する抗菌力を有し、聴器毒性が少ない¹⁴⁾し、19および20も強い抗菌力を有している。また、ホーチミシン、スボラリシンおよびイスタマイシンの各生産菌の培養液中から得られた2''-*N*-カルバモイル(16, 21, 23)および2''-*N*-ホルミル(13, 14, 15, 22, 24)誘導体は、前述のごとく2''-*N*-ホルムイミドイル体が分解して得られた可能性が大きく、前者は約半分の抗菌力を保持しているが、後者はきわめて弱い抗菌力しか示さない。グリシル基のかわりに、ザルコシル基、β-アラニル基、4-アミノ-2-ヒドロキシブチル基などを導入した9は4の半分以上の抗菌力を示したが⁶⁴⁾、まだグリシルまたはホルムイミドイルグリシル基に勝るアシル基は見い出されていない。たとえば、4-*N*-(2-アミノエタンスルホニル)ホーチミシン^{B62)}は抗菌力を示さない。また、4-*N*-アルキルホーチミシンAのうち、2-アミノエチル基、4-アミノ-2-ヒドロキシブチル基、2-ヒドロキシ-4-メチルアミノブチル基の場合に、4に匹敵する抗菌力が認められた⁶³⁾。1-アミノ基は抗菌活性に必須であることが、抗菌力を示さない1-デアミノ-2-デオキシホーチミシンA⁶⁴⁾の合成によって証明され、その配位は前述のごとくAAC(3)-Iの基質特異性に関係するばかりでなく、6と7の抗菌力の差からエクアトリアルである場合が優れていることがわかる。しかし、1-エピ-ホーチミシンAは4と同程度の活性であると報告されている⁶⁵⁾。2-水酸基のデオキシ化は顕著な抗菌力の上昇を示し^{64,66)}、2-エピ-ホーチミシンAは4と同等の抗菌力を示した^{67,68)}。2-クロロ-2-デオキシ-2-エピ-ホーチミシンA⁶⁹⁾は4より抗菌力をやや減少する程度で、1,2-ジエピ-ホーチミシンA⁷⁰⁾は約半分の抗菌力を保持するが、1-デアミノ-2-デオキシ-2-エピ-アミノホーチミシンA⁶⁴⁾や2-アミノ-1-ヒドロキシホーチミシンA⁷⁰⁾は活性を示さない。また、2-アミノ-2-デオキシホーチミシンAや2-クロロ-2-デオキシホーチミシンAは弱い抗菌力しか示さない⁷¹⁾。3-*O*-メチル基のデメチル化は4⁴⁹⁻⁵¹⁾、5⁵⁸⁾および7⁵²⁾で示されたように緑

濃菌に対する抗菌力を上昇せしめ、これらの誘導体は臨床試験をする価値のあるものである。サンナマイシンA(6)の3-エピ体である4-*N*-グリシルサンナマイシンC⁸⁸⁾は、6より強い抗菌力を示した。5-水酸基は2,5-ジデオキシホーチミシンA⁶⁹⁾または2-エピ-5-デオキシホーチミシンA⁶⁸⁾が著しく抗菌力を減弱していることから抗菌性に必須と考えられる。

アミノ糖部分の2'-アミノ基のアシル化とアルキル化が検討され、4のグリシル、2-アミノエチル、4-アミノ-2-ヒドロキシブチルおよび4-アミノ-2-ヒドロキシブチル誘導体^{72,73)}などはいずれも4に匹敵する抗菌力を示し、AAC(3)-Iを有する耐性菌にも有効であった。6'-*N*-ジメチルホーチミシンAは著しく抗菌力を減弱し、6'-*N*-メチル体は4の約半分の抗菌力を示すが⁷⁴⁾、ホーチミシン、スボラリシンの6'(S)-*C*-メチル基とイスタマイシンにおける6'-*N*-メチル基は、抗菌力にほとんど差がないようである。しかし、6'(R)-*C*-メチル基を有する6'-エピ-ホーチミシンAは4の半分以下の抗菌力しか示さない⁷⁵⁾。これは筆者ら^{36,76)}が合成した6'-*C*-メチルカナマイシン誘導体の場合と異なる結果である。また、3'-デオキシパロマミン(リビダミン)より合成された6'-*C*-デメチル-1-エピ-4'-ヒドロキシピラリシンAは5の1/2~1/4の抗菌力しか示さなかった⁷⁷⁾。さらに4のジアミノ糖部分を2-アミノグルコースまたは6-アミノグルコースにおきかえた化合物は、いずれも抗菌性をほとんど失っていた⁷⁸⁾。しかし、4',5'-デヒドロ体である26が4より強い抗菌力を示すことは、デオキシストレプタミン抗生物質におけるシソミシンと同様に興味あることである²⁵⁾。

7. おわりに

新規で有用な抗生物質を微生物の代謝産物中に見い出す確率が減少しつつある現在、なお新物質を発見する努力が全世界で続けられているが、既知物質の化学修飾による有用物質の探索はさらに精力的に進められている。1977年に、はじめて発見された1,4-ジアミノシクリトール抗生物質は、今日までわずか5年の間に相ついで数十にのぼる物質が発見され、それらの中には、すでに化学療法剤としての価値が証明されたものである。また、多くの有機化学者によって多数の誘導体が競って合成され、抗菌性がより広く強い、また毒性や副作用がより少ない化学療法剤の開発を指向している。この群のアミノ配糖体抗生物質は、全く新しい素材としてわが国を中心に急速に研究が進められ、近年の抗生物質研究の縮図といえるであろう。(昭和57年5月4日受理)

文 献

- 1) H. Umezawa, "Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry", (R. S. Tipson, D. Horton eds.) Vol. 30, p. 183 (1974)
- 2) 近藤信一, "薬剤耐性機構の生化学", (三橋 進編), p. 27 (1981)
- 3) T. Nara, M. Yamamoto, I. Kawamoto, K. Takayama, R. Okachi, S. Takasawa, T. Sato, S. Sato, *J. Antibiot.*, **30**, 533 (1977)
- 4) R. Okachi, S. Takasawa, T. Sato, S. Sato, M. Yamamoto, I. Kawamoto, T. Nara, *ibid.*, **30**, 541 (1977)
- 5) R. S. Egan, R. S. Stanaszek, M. Cirovic, S. L. Mueller, J. Tadanier, J. R. Martin, P. Collum, A. W. Goldstein, R. L. DeVault, A. C. Sinclair, E. E. Fager, L. A. Mitscher, *ibid.*, **30**, 552 (1977)
- 6) T. Deushi, A. Iwasaki, K. Kamiya, T. Kunieda, T. Mizoguchi, M. Nakayama, H. Itoh, T. Mori, T. Oda, *ibid.*, **32**, 173 (1979)
- 7) A. Iwasaki, H. Itoh, T. Mori, *ibid.*, **32**, 180 (1979)
- 8) T. Deushi, M. Nakayama, I. Watanabe, T. Mori, H. Naganawa, H. Umezawa, *ibid.*, **32**, 187 (1979)
- 9) Y. Okami, K. Hotta, M. Yoshida, D. Ikeda, S. Kondo, H. Umezawa, *ibid.*, **32**, 964 (1979)
- 10) K. Hotta, N. Saito, Y. Okami, *ibid.*, **33**, 1502 (1980)
- 11) T. Deushi, J. Iwasaki, K. Kamiya, T. Mizoguchi, M. Nakayama, H. Itoh, T. Mori, *ibid.*, **32**, 1061 (1979)
- 12) I. Watanabe, T. Deushi, T. Yamaguchi, K. Kamiya, M. Nakayama, T. Mori, *ibid.*, **32**, 1066 (1979)
- 13) A. Iwasaki, H. Itoh, T. Mori, *Int. J. System. Bacteriol.*, **31**, 280 (1981)
- 14) S. Inouye, K. Ohba, T. Shomura, M. Kojima, T. Tsuruoka, J. Yoshida, N. Kato, M. Ito, S. Amano, S. Omoto, N. Ezaki, T. Ito, T. Niida, K. Watanabe, *J. Antibiot.*, **32**, 1356 (1979)
- 15) T. Shomura, M. Kojima, J. Yoshida, M. Ito, S. Amano, K. Totsugawa, T. Niwa, S. Inouye, T. Ito, T. Niida, *ibid.*, **33**, 924 (1980)
- 16) K. Ohba, T. Tsuruoka, K. Mizutani, N. Kato, S. Omoto, N. Ezaki, S. Inouye, T. Niida, K. Watanabe, *ibid.*, **34**, 1090 (1981)
- 17) M. Jackson, J. P. Karwowski, A. C. Sinclair, E. E. Fager, D. P. Labeda, L. A. Nutting, J. P. Prokop, W. L. Kohl, J. L. Derkowski, R. J. Theriault, *Abst. 21st Interscience Conference on Antimicrobial Agents & Chemotherapy*, 1981, Chicago, No. 183
- 18) P. Kurath, W. Rosenbrook, Jr., D. A. Dannigan, J. B. McAlpine, R. S. Egan, R. S. Stanaszek, M. Cirovic, S. L. Mueller, W. H. Washburn, *Abst. 21st Interscience Conference on Antimicrobial Agents & Chemotherapy*, 1981, Chicago, No. 184
- 19) D. Ikeda, Y. Horiuchi, M. Yoshida, T. Miyasaka, S. Kondo, H. Umezawa, *Carbohydr. Res.*, in press (1982)
- 20) Y. Horiuchi, D. Ikeda, S. Gomi, S. Kondo, H. Umezawa, *ibid.*, in press (1982)
- 21) M. Sugimoto, S. Ishii, R. Okachi, T. Nara, *J. Antibiot.*, **32**, 868 (1979)
- 22) T. Iida, M. Sato, I. Matsubara, Y. Mori, K. Shirahata, *ibid.*, **32**, 1273 (1979)
- 23) S. Inouye, T. Shomura, K. Ohba, H. Watanabe, S. Omoto, T. Tsuruoka, M. Kojima, T. Niida, *ibid.*, **33**, 510 (1980)
- 24) T. Deuchi, I. Watanabe, A. Iwasaki, K. Kamiya, T. Mizoguchi, M. Nakayama, M. Okuchi, H. Itoh, T. Mori, *ibid.*, **34**, 811 (1981)
- 25) K. Shirahata, G. Shimura, S. Takasawa, T. Iida, K. Takahashi, "Aminocyclitol Antibiotics", (K. L. Rinehart, Jr., T. Suami eds.) p. 309 (1980)
- 26) J. B. McAlpine, R. S. Egan, R. S. Stanaszek, M. Cirovic, S. L. Mueller, R. E. Carney, P. Collum, E. E. Fager, A. W. Goldstein, D. J. Grampovnik, P. Kurath, J. R. Martin, G. G. Post, J. H. Seely, J. Tadanier, "ibid.", (K. L. Rinehart, Jr., T. Suami eds.) p. 295 (1980)
- 27) 池田大四郎, 宮坂 毅, 吉田 信, 堀内幸生, 近藤信一, 梅沢浜夫, 日化誌, 印刷中 (1982)
- 28) T. Deushi, T. Yamaguchi, K. Kamiya, A. Iwasaki, T. Mizoguchi, M. Nakayama, I. Watanabe, H. Itoh, T. Mori, *J. Antibiot.*, **33**, 1274 (1980)
- 29) N. Hirayama, K. Shirahata, Y. Ohashi, Y. Sasada, J. R. Martin, *Acta Crystallogr., Sec. B*, **34**, 2648 (1978)
- 30) N. Hirayama, K. Shirahata, Y. Ohashi, Y. Sasada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **53**, 1514 (1980), **53**, 3104 (1980), **54**, 2624 (1981)
- 31) R. E. Reeves, "Advance in Carbohydrate Chemistry", (C. S. Hudson, S. M. Cantor eds.) Vol. 6, p. 107 (1951)
- 32) S. T. K. Bukhari, R. D. Guthrie, A. I. Scott, A. D. Wrixon, *Tetrahedron*, **26**, 3653 (1970)
- 33) S. Umezawa, T. Tsuchiya, K. Tatsuta, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **39**, 1235 (1966)
- 34) D. Ikeda, T. Miyasaka, M. Yoshida, Y. Horiuchi, S. Kondo, H. Umezawa, *J. Antibiot.*, **32**, 1365 (1979)
- 35) S. Umezawa, T. Tsuchiya, T. Jikihara, H. Umezawa, *ibid.*, **24**, 711 (1971)

- 36) S. Kondo, *Jpn. J. Antibiot.*, **32** Suppl., S-228 (1979)
- 37) D. Ikeda, Y. Horiuchi, S. Kondo, H. Umezawa, *J. Antibiot.*, **33**, 1281 (1980)
- 38) T. Suami, Y. Honda, *Chem. Lett.*, **1980**, 641
- 39) H. Sano, T. Sakaguchi, Y. Mori, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **52**, 2727 (1979)
- 40) 須網哲夫, 本田 裕, 坂本逸郎, 第24回天然有機化合物討論会(大阪)要旨集 p.630 (1981)
- 41) T. Suami, F. W. Lichtenthaler, S. Ogata, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **40**, 1488 (1967)
- 42) Y. Horiuchi, D. Ikeda, S. Kondo, H. Umezawa, *J. Antibiot.*, **33**, 1577 (1980)
- 43) R. Ohme, E. Schmitz, *Angew. Chem., Int. Ed., Engl.*, **6**, 566 (1967)
- 44) K. Atsumi, E. Akita, T. Niida, *J. Antibiot.*, **35**, 90 (1982)
- 45) K. Shirahata, T. Iida, M. Sato, K. Mochida, *Carbohydr. Res.*, **92**, 168 (1981)
- 46) J. Tadanier, J. R. Martin, P. Johnson, A. W. Goldstein, R. Hallas, *ibid.*, **85**, 61 (1980)
- 47) P. S. Lartey, D. J. Grampovnik, *J. Antibiot.*, **33**, 1071 (1980)
- 48) J. Tadanier, J. R. Martin, 日特開 昭 53-95943 (1978)
- 49) J. R. Martin, P. Johnson, J. Tadanier, A. Goldstein, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **18**, 761 (1980)
- 50) R. L. Girolami, J. M. Stamm, *ibid.*, **18**, 766 (1980)
- 51) R. N. Jones, C. Thornsberry, A. L. Barry, R. R. Packer, C. N. Baker, R. E. Badal, *ibid.*, **18**, 773 (1980)
- 52) C. Monneret, J. C. Florent, I. Kabore, Q. Khuong-Huu, *J. Carbohydr. Nucleosides Nucleotides*, **1**, 161 (1974)
- 53) 渡辺 勇, 岩崎昭夫, 森 俊人, 日特開 昭 55-55198 (1980)
- 54) J. Tadanier, J. R. Martin, P. Kurath, A. W. Goldstein, P. Johnson, *Carbohydr. Res.*, **79**, 91 (1980)
- 55) M. Sato, K. Mochida, Y. Mori, K. Shirahata, *J. Antibiot.*, **34**, 513 (1981)
- 56) T. L. Nagabhushan, A. B. Cooper, W. N. Turner, H. Tsai, S. McCombie, A. K. Mallams, D. Rane, J. J. Wright, P. Reichert, D. L. Boxler, J. Weinstein, *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 5253 (1978)
- 57) T. Tsuchiya, Y. Takagi, S. Umezawa, *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 4951
- 58) S. Sato, T. Iida, R. Okachi, K. Shirahata, T. Nara, *J. Antibiot.*, **30**, 1025 (1977)
- 59) 近藤信一, “抗生物質医薬としての新しい認識”(日本薬学会)ファルマシアレビュー No.7, p.29 (1981)
- 60) P. Kurath, J. Tadanier, P. Johnson, D. Grampovnik, R. S. Egan, R. S. Stanaszek, M. Cirovic, W. H. Washburn, J. E. Leonard, *J. Antibiot.*, **34**, 691 (1981)
- 61) P. Kurath, D. Grampovnik, J. Tadanier, J. R. Martin, R. S. Egan, R. S. Stanaszek, M. Cirovic, W. H. Washburn, P. Hill, D. A. Dunnigan, J. E. Leonard, P. Johnson, A. W. Goldstein, *ibid.*, **32**, 884 (1979)
- 62) J. Tadanier, R. Hallas, *ibid.*, **34**, 403 (1981)
- 63) M. Sato, Y. Mori, *ibid.*, **32**, 371 (1979)
- 64) J. R. Martin, P. Johnson, J. Tadanier, A. W. Goldstein, *ibid.*, **33**, 810 (1980)
- 65) H. Sano, Y. Mori, K. Shirahata, *ibid.*, **34**, 474 (1981)
- 66) T. Suami, *Jpn. J. Antibiot.*, **32** Suppl., S91 (1979)
- 67) J. Tadanier, R. Hallas, J. R. Martin, M. Cirovic, R. S. Stanaszek, *Carbohydr. Res.*, **92**, 191 (1981)
- 68) J. Tadanier, R. Hallas, J. R. Martin, M. Cirovic, R. S. Stanaszek, *ibid.*, **92**, 207 (1981)
- 69) T. Suami, K. Tadano, K. Matsuzawa, *J. Antibiot.*, **33**, 1289 (1980)
- 70) J. R. Martin, P. Johnson, J. Tadanier, M. Cirovic, R. S. Stanaszek, *ibid.*, **35**, 46 (1982)
- 71) J. Tadanier, J. R. Martin, A. M. Nadzan, P. Shonson, J. Holms, R. Hallas, R. Stanaszek, M. Cirovic, D. Grampovnik, A. W. Goldstein, *Carbohydr. Res.*, **96**, 185 (1981)
- 72) K. Mochida, M. Sato, S. Yoshiie, Y. Mori, K. Shirahata, K. Kitaura, *J. Antibiot.*, **34**, 522 (1981)
- 73) M. Sato, K. Mochida, S. Yoshiie, Y. Mori, K. Shirahata, K. Kitaura, *ibid.*, **34**, 530 (1981)
- 74) J. Tadanier, D. A. Dunnigan, J. R. Martin, L. Freiberg, M. Cirovic, *ibid.*, **34**, 193 (1981)
- 75) J. Tadanier, R. Hallas, J. R. Martin, R. S. Stanaszek, *Tetrahedron*, **37**, 1309 (1981)
- 76) H. Umezawa, D. Ikeda, T. Miyasaka, S. Kondo, *J. Antibiot.*, **32**, 1360 (1979)
- 77) T. Yamaguchi, Y. Kyotani, I. Watanabe, S. Sato, Y. Takahashi, M. Nagakura, T. Mori, *ibid.*, **32**, 1137 (1979)
- 78) W. Rosenbrook, Jr., J. S. Fairgrieve, *ibid.*, **34**, 681 (1981)
- 79) A. Iwasaki, T. Deushi, I. Watanabe, M. Okuchi, H. Itoh, T. Mori, *ibid.*, **35**, 517 (1982)