



Title	ペプチド抗生物質ツベラクチノマイシンの合成研究
Author(s)	豊島, 正
Citation	大阪大学, 1976, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/2065
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

ペプチド抗生物質ツベラクチノマイシンの
合成研究

豊島 正

目 次

第1章	序 論	1
第2章	3-ウレイドデヒドロアラニンを含むペプト キドの合成	7
第3章	[Ala ³ , Ala ⁴]-ツベラクチノマイシンの 合成	14
3-1	位置Cでの環化反応による [Ala ³ , Ala ⁴]- Turn 0 の合成の試み	16
3-2	位置Bでの環化反応による [Ala ³ , Ala ⁴]- Turn 0 の合成	21
3-3	[Ala ³ , Ala ⁴]-Turn 0 のコンホメーシ ョンについての考察	27
3-4	[Ala ³ , Ala ⁴]-Turn 0 の構造と抗菌作 用との関係についての考察	34
第4章	ツベラクチノマイシン 0 の全合成	37
第5章	半合成ツベラクチノマイシン誘導体の合成 を5びにその抗菌力発現とその構造との相関 関係	43
5-1	半合成 Turn 誘導体の合成	43
5-2	半合成 Turn 誘導体の抗菌力	49
5-3	分枝部分の構造と抗菌力との相関関係	60

第6章 実験の部	65
6-1 第2章に関する実験の部	65
6-2 第3章に関する実験の部	69
6-3 第4章に関する実験の部	86
6-4 第5章に関する実験の部	95
Abbreviations	106
References	108
謝 辞	112

第1章 序論

抗生物質ツバラクチノマイシン (Tum) は 1966 年静岡県伊豆半島大仁町の土壌から単離された放線菌 *Streptomyces griseoverticillatus* var. *tuberacticus* の生産する抗結核性塩基性テトラド群である。¹⁾ その4種の Tum の構造は芝研究室の若宮氏らにより Fig. 1-1 のように決定された。²⁾ このうちまず Tum O の構造が化学的分解をうけるに 2HBr·HCl 塩の X 線解析により決定され、それを基準にして他の3種, A, B, N も化学的方法により、決められたのである。また Tum B は古くから知られていた構造の決定されていなかった *Viomycin* と同一物質であることが明らかになり^{3) 4)} 長年続いていた *Viomycin* の構造研究にも終止符がうたれた結果となった。その後、Bycroft は *Viomycin* を Tum O の X 線解析の場合と同様に 2HBr·HCl 塩として得た結晶の X 線解析により若宮らの化学構造に関する結論を支持する報告を行った。⁵⁾

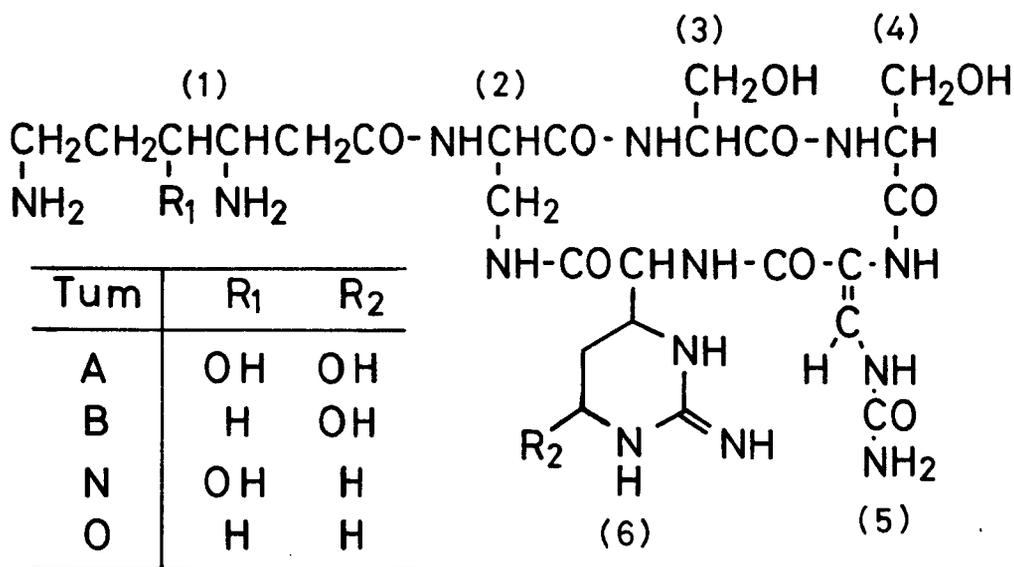
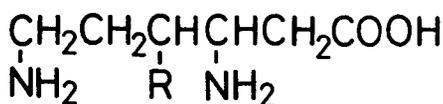
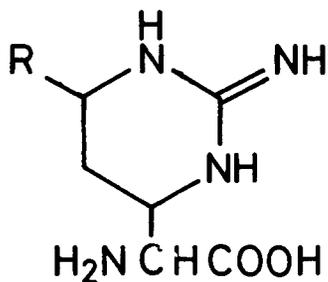


Fig. 1-1

Tumのアミノ酸組成に関してはFig. 1-1からも明らかのように、通常のタンパク質・ワポチドなどを構成するアミノ酸以外の特異なアミノ酸を多く含んでいるのが特徴的である。すなわちツベラクチジン(Tbd)、カプロオマイシジン(Cpd)⁶⁾、 β -リジン(β -Lys)、 γ -ヒドロキシ- β -リジン(γ -Hy- β -Lys)、 α, β -ジアミノプロピオン酸(Dpr)、 β -ウレイドデヒドロアラニン(Uda)などがそれである。そのうち、

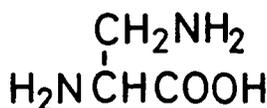


R=OH γ -ヒドロキシ- β -リジン
(γ -Hy- β -Lys)

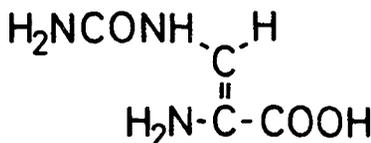
R=H β -リジン(β -Lys)

R=OH ツベラクチジン(Tbd)

R=H カプロオマイシジン(Cpd)



α, β -ジアミノプロピオン酸
(Dpr)



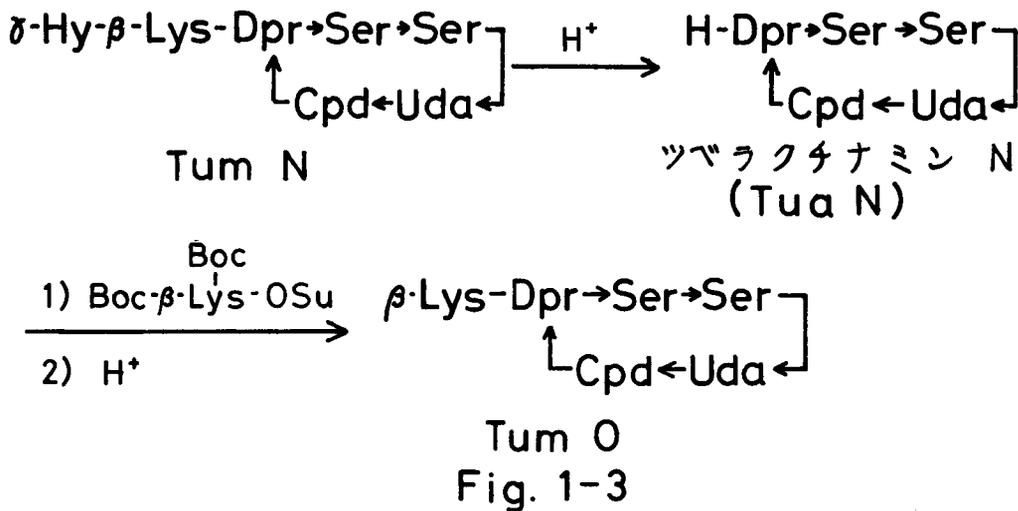
β -ウレイドデヒドロアラニン
(Uda)

Fig. 1-2

Tbd⁷⁾⁸⁾、 γ -Hy- β -Lys⁹⁾¹⁰⁾はTumに始めて見出された新天然アミノ酸で若宮らにより構造決定が行われた。又、Cpd¹¹⁾、 β -Lys¹²⁾¹³⁾、 γ -Hy- β -Lys¹⁴⁾などに関する合成研究も芝研究室において行われ、 γ -Hy- β -Lysの合成研究は私が修士課程において行ったものである。

最近、若宮らはTum Nを尿素の存在下の酸処理により分枝部分の γ -Hy- β -Lysのみを選択的に脱離して環状ワポチド部分を結晶として純粋に得ることができた。このものはツベラクチナミン(Tua)Nと命名されTum A、B、N、Oと同程度の抗菌力を示した。このもの

に改めて β -Lys を導入し、既に X 線解析によって構造が決定されている Tum O に直接導くことができ、化学的方法によって推定されていた Tum N の構造が確認された。¹⁵⁾



Tum 群および Tua N は Table 1-1 に見られるように特に *Mycobacterium*, *Corynebacterium* などに強い抗菌力を示す特徴的な抗菌スペクトルを与える。さらに人型結核菌に対しても抗菌力が認められ、Tum B (Viomycin), Tum N は結核の治療薬として現在実用化されている。治療薬として抗生物質においては菌の薬剤耐性の問題が解決を迫られている。この薬剤耐性の問題を分子レベルで考察した場合、耐性菌がその抗生物質のある部位を化学的に変化させた結果、その菌に対して無毒化するという機構が考えられ、事実カナマイシン類のようなアミノ糖抗生物質において水酸基のアシル化、¹⁶⁾ デニル化、リン酸化などによる菌の耐性獲得機構が実証されている。もしかりに抗生物質分子において、このような耐性菌の修飾部位と抗菌作用発現部位が異なっていれば、前者の修飾部位の官能基を除去して菌の修飾を不可能にすれば耐性菌に対しても抗菌力を示す抗生物質を創製することが可能であると考えられる。このような方向での研究はペプチド抗生物質では国の内外を問わずまだ行われていず

Minimum Inhibitory Concentration of
Tuberactinomycins and Tuberactinamine N

3)

Test organisms	Tuberactinomycin			
	A	B	N	O
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209 P	50	50	>100	100
<i>Staphylococcus citreus</i>	50	50	50	50
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	12.5	3.2	12.5	3.2
<i>Micrococcus flavus</i>	25	50	>100	50
<i>Sarcina lutea</i> ATCC 1001	100	100	100	100
<i>Nocardia asteroides</i>	3.2	12.5	3.2	12.5
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	25	25	50	50
<i>Salmonella enteritidis</i> Gaertner	100	25	-	50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> A ₃	12.5	6.3	100	12.5
<i>Shigella flexneri</i>	12.5	50	100	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i> PCI 602	-	50	-	50
<i>Mycobacterium</i> ATCC 607	12.5	3.2	6.3	6.3

15)

Test organisms	Tua N	Tum N
<i>Corynebacterium Diphtheriae</i> P.W.8	25	6.3
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	>100	25
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	>100	25
<i>Salmonella typhosa</i> H 901	>100	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	100	25
<i>Proteus vulgaris</i> OX 19	>100	50
<i>Mycobacterium</i> ATCC 607	12.5	6.3

Table 1-1

また一般に抗結核薬剤の耐性獲得機構については分子レベルでは全く明らかにされていない。したがってこのようなアプローチはペプチド化学者に与えられた特権でもあり義務でもあると思われ、実際面においても耐性菌に悩まされている結核治療に一つの曙光を与える契機になり得ると考えた。

本研究の第一の目的は上に述べたような考え方が正しいかどうかを種々の Tum 類似体の全合成によって評価すると同時にできればその活性部位を明らかにし、さらに耐性菌に対して抗菌力を示す抗生物質を求めて合成的研究を行うことである。(第2章、第3章) 目的の第二は当研究室において構造決定が行われた天然 Tum の全合成を完成させることである。(第4章)。第三には先に述べた Tum の環状ペプチド部に当る T_{ua}N の遊離のアミノ基に種々のアシル基を再導入して、いわゆる半合成抗生物質を合成しその抗菌性発現と構造との相関関係を追求するとともに新しいかつ強力な抗菌スペクトルを示す新抗生物質を求めることである。(第5章)

まず第一の類似体の合成研究を進めるに当たって、Tum N の分枝アミノ酸部分である γ -Hy- β -Lys を選択的に脱離した T_{ua}N においても Tum 群と同程度の抗菌力が現われたという事実から Tum 群ペプチドの最も重要な活性部位は分枝部分ではなく環状ペプチド部分に存在すると考えられた。そこでまず2残基のセリン(Ser)の水酸基に着目して、Fig. 1-4に示すようにこの水酸基をそれぞれ水素に置換した3種の Tum 類似体の合成を計画し、その抗菌力を測定することにした。さらにこれら5 Tum 類似体の耐性菌に対する抗菌力を測定することにより、薬剤耐性獲得機構についても考察することができると考えた。この部分の研究の内、[Ala³, Ala⁴]-Tum O 合成の一部、および [Ala³]-Tum O, [Ala⁴]-Tum O の合成は修士課程の野本信也氏が担当したものである。

第二の天然物の全合成的研究に対しては類似体の合成研究の結果を生かし天然 Tum の中で構造的に最も単純なアミノ酸より構成されている Tum O を選んでその全合成をまず完成させ構造を確定することにした。

第三の半合成的研究は T_{ua}N の Dpr の α -アミノ基に種々の脂肪酸、アミノ酸、およびペプチドを導入し現在約40種類に及ぶ半合成 Tum の合成を行った。これらについて特に分枝部分の構造と抗菌

カとの相関関係を論じる。

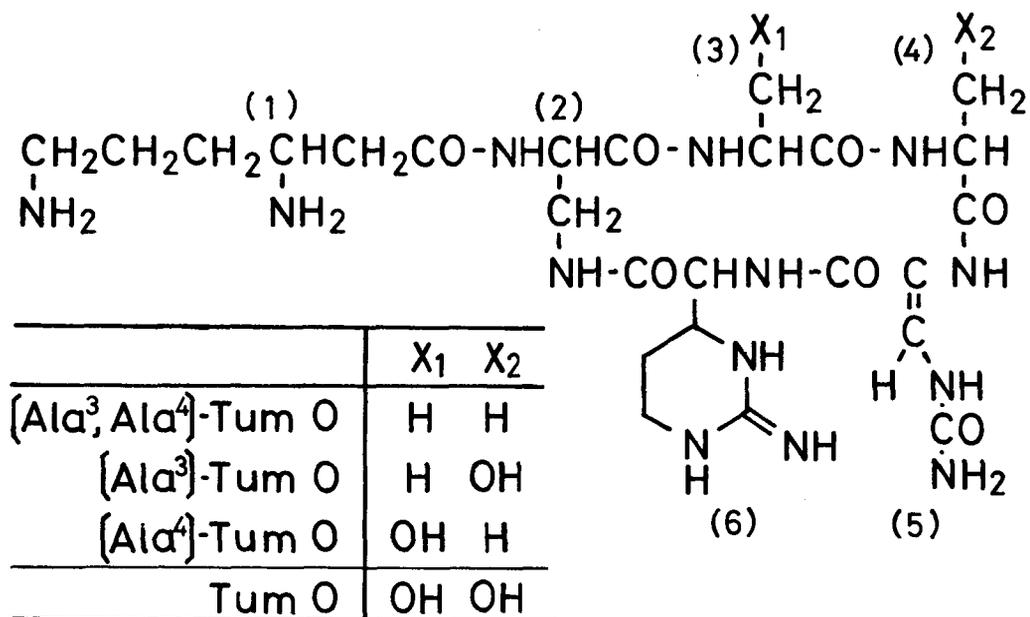


Fig. 1-4

第2章 3-ウレイドデヒドロアラニンを含む7-プロチドの合成

ツペラクチノマイシン構造類似体および Tum O の合成過程において問題となる点は通常の7-プロチドには含まれていない特殊な官能基を有するアミノ酸が多数存在することである。すなわち β -リジン、 α, β -ジアミノプロピオン酸、カプシオマイシジンなどの官能基の保護をいかにするかであるが、さらに他に例のない重要な問題点は、3-ウレイドデヒドロアラニン (Uda) 部分 (2-1) をどのような形で最終過程に結びつけるかである。

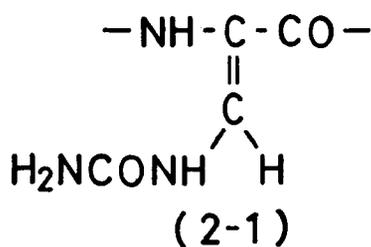


Fig. 2-1

Bycroft らは Fig 2-2 に示すように ethyl phenacetate (2-2) から出発して α -C-ホルミル体 (2-3) を経て Uda 誘導体 (2-4)

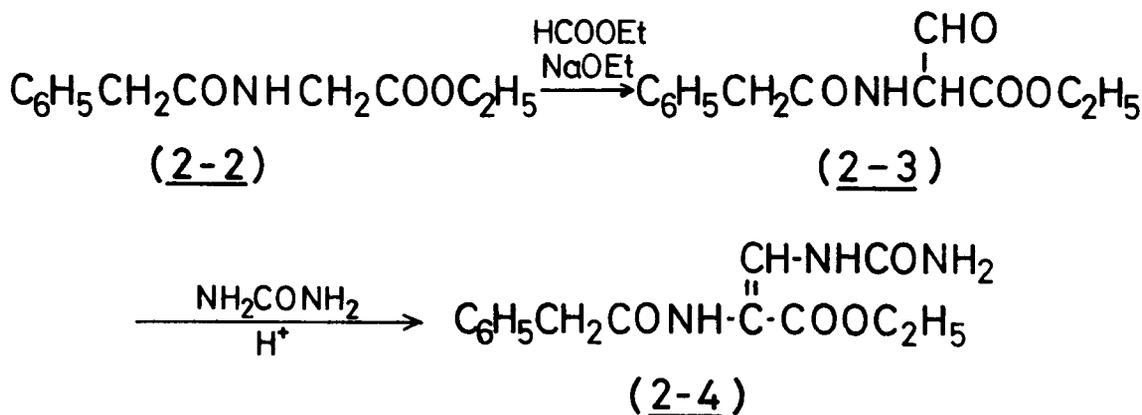
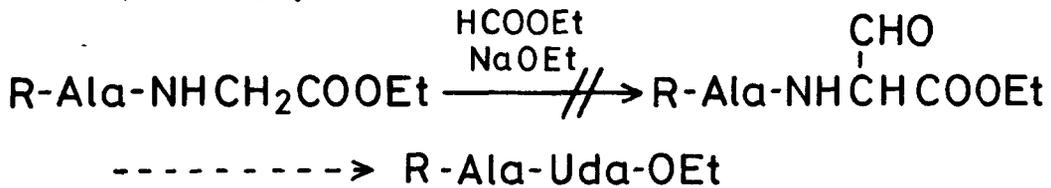


Fig. 2-2

を合成している。¹⁷⁾ しかし Uda は酸処理などにより容易に尿素が脱離して分解する危険性があるので Uda の形のままでペプチド合成を行うことは到底無理であると考え、その適当な前駆物質でペプチド合成を行った後に Uda に変換する方法を検討した。

まず予備実験として Bycroft 5 の方法を応用して保護ホルミルグリシンを含むペプチドを合成し、これを Uda ペプチドに転換する反応を試みた。すなわち Fig. 2-3 に示すように Z-Ala-Gly-OEt (Z: ベンジルオキシカルボニル) および Pac-Ala-Gly-OEt (Pac: フェニルアセチル) などのグリシン残基の Cホルミル化を検討したが生成物は複雑で目的物を単離するには至らなかった。



R: Z (C₆H₅CH₂OCO)
Pac (C₆H₅CH₂CO)

Fig. 2-3

このようにグリシンペプチドを合成してからそのグリシン残基の α炭素にホルミル基を導入する方法を断念し、次にセリンの水酸基を酸化してホルミル体に導く方法を検討した。すなわち簡単な試験物質として、Z-Ser-OEt, Pac-Ser-OEt を用いて、コリンズ試薬¹⁸⁾ ジメチルスルホキシド-ジシクロヘキシルカルボジイミド¹⁹⁾などにより酸化反応を検討したが反応生成物は非常に複雑で目的物のホルミル誘導体を得ることができなかった。

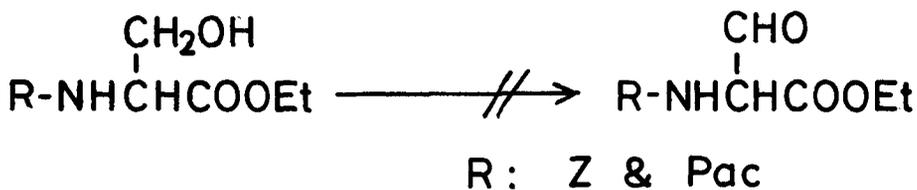


Fig. 2-4

そこで最後に、まずα-C-ホルミルグリシン誘導体を合成しておき、このものからペプチド鎖を延長する方法をとることにした。しかしα-C-ホルミル体はそのもの自身不安定でそのままの形ではペプチド合成に利用できないのでホルミル基を保護したβ,β-ジエトキシアラニン(Dea) (2-5)を用い、必要な時にアセタールを除去しUda誘導体(2-6)へ変換する方針をとった。

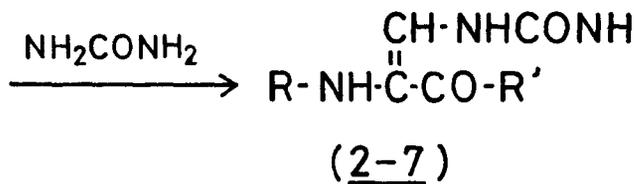
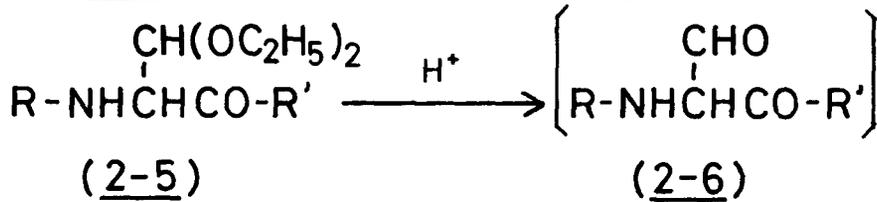


Fig. 2-5

保護C-ホルミルグリシンすなわちβ,β-ジエトキシアラニンエチルエステル(2-10)はFig. 2-6に示すように文献既知の方法²⁰⁾で合成を行った。すなわちFor-Gly-OEt(2-8)²¹⁾をベンゼン中ナトリウムエトキシドを用い、ギ酸エチルとエステル縮合を行いα-C-ホルミル体のエノレートアニオン(2-9)とした後にエタノール中

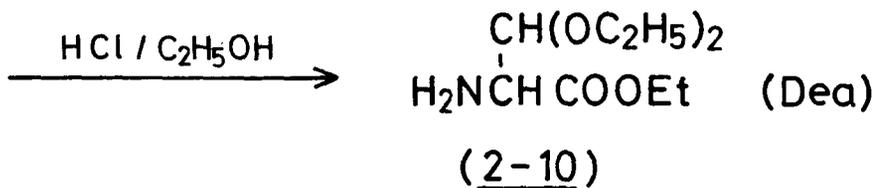


Fig. 2-6

塩化水素によりアセタール化を行い、中和した後蒸留により 2-10 を得た。

このようにして得た 2-10 を用いて Dea 残基を含むペプチドの合成²²⁾に移った。蒸留直後の H-Dea-OEt を Z-Ala-OH と N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) - N-ヒドロキシコハク酸イミド (HOSu) 法により縮合し Z-Ala-Dea-OEt (2-11) に導いた。次にこれをヒドラジン処理により Z-Ala-Dea-NHNH₂ (2-12) に変換した後、アジド法により H-Ala-OH と水溶液中で反応して Z-Ala-Dea-Ala-OH (2-13) に導くことができた。これをジアゾメタンによりエステル化を行い Z-Ala-Dea-Ala-OMe (2-14) を得ることができた。このように Dea を含むペプチドの合成は通常の方法

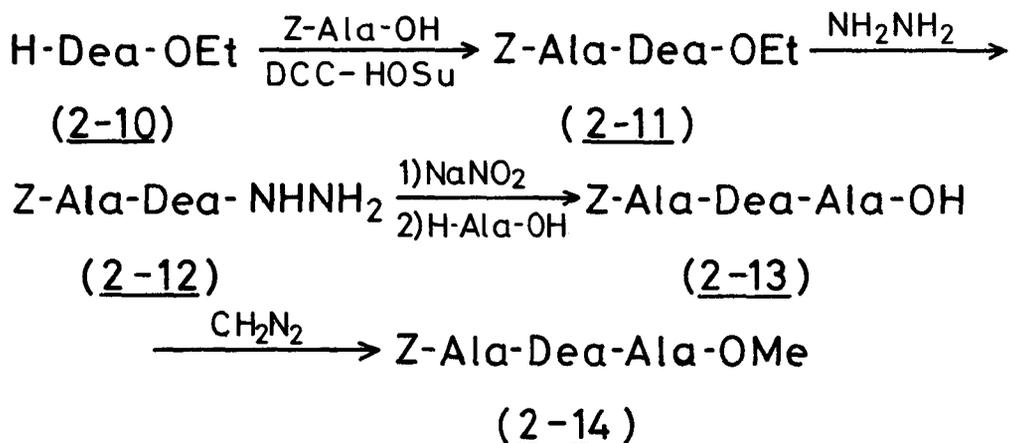


Fig. 2-7

で支障なしに合成できることがわかったので、次に Z-Ala-Dea-OEt (2-11) および Z-Ala-Dea-Ala-OMe (2-14) の 2 種の化合物を用いてこれらの Dea を Uda へ変換する反応を検討した。まず室温において種々の濃度の塩酸によりアセタールの解裂、次いでウレイド化を行った。その粗生成物には紫外吸収スペクトルによって Uda の特徴的な吸収が認められたが、純粋に単離するには至らなかった。しかし出発物の 2-11 または 2-14 をアセトン - 2 M 塩酸 (1:1) で 8 分間加熱還流し、次いで尿素と反応することにより目的とする Uda

へ変換された生成物を得ることができた。この結晶生成物は紫外吸収スペクトル、NMRスペクトル (Fig 2-9)、(Fig. 2-10) などに Uda 特有のパターンを示した。

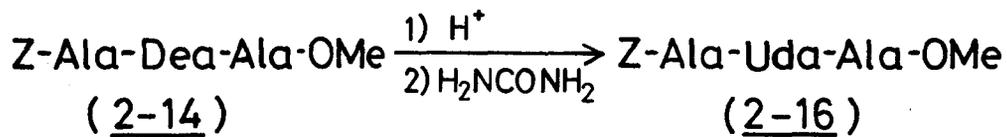
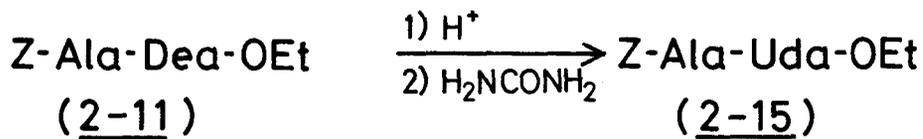


Fig. 2-8

以上のことから Dea はペプチド合成に十分耐えるだけの安定性を有し、かつ適当な合成段階において Uda に変換できることが明らかになったので、Tum 群ならびにその構造類似体の合成への道が開かれたことになった。

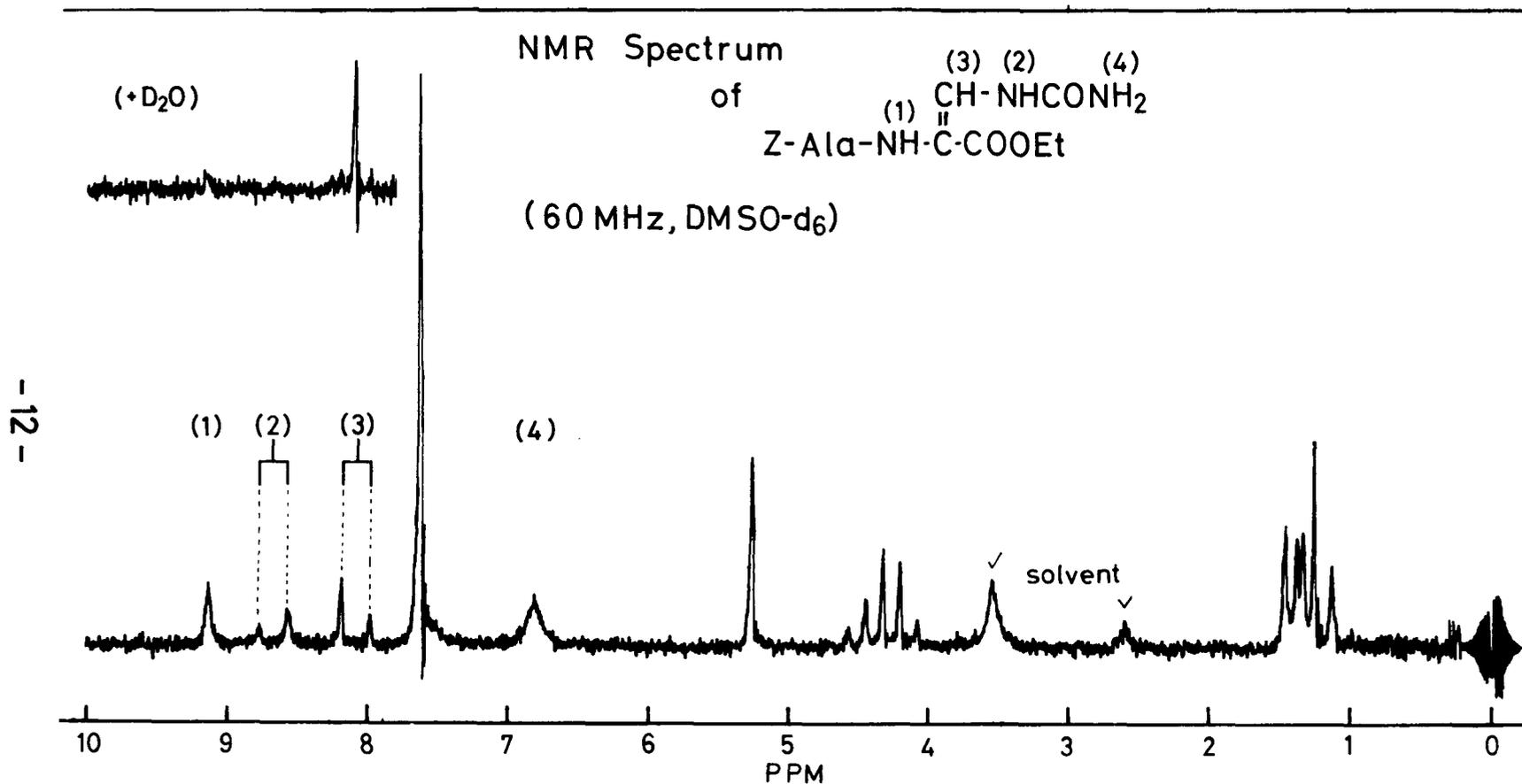


Fig. 2-9

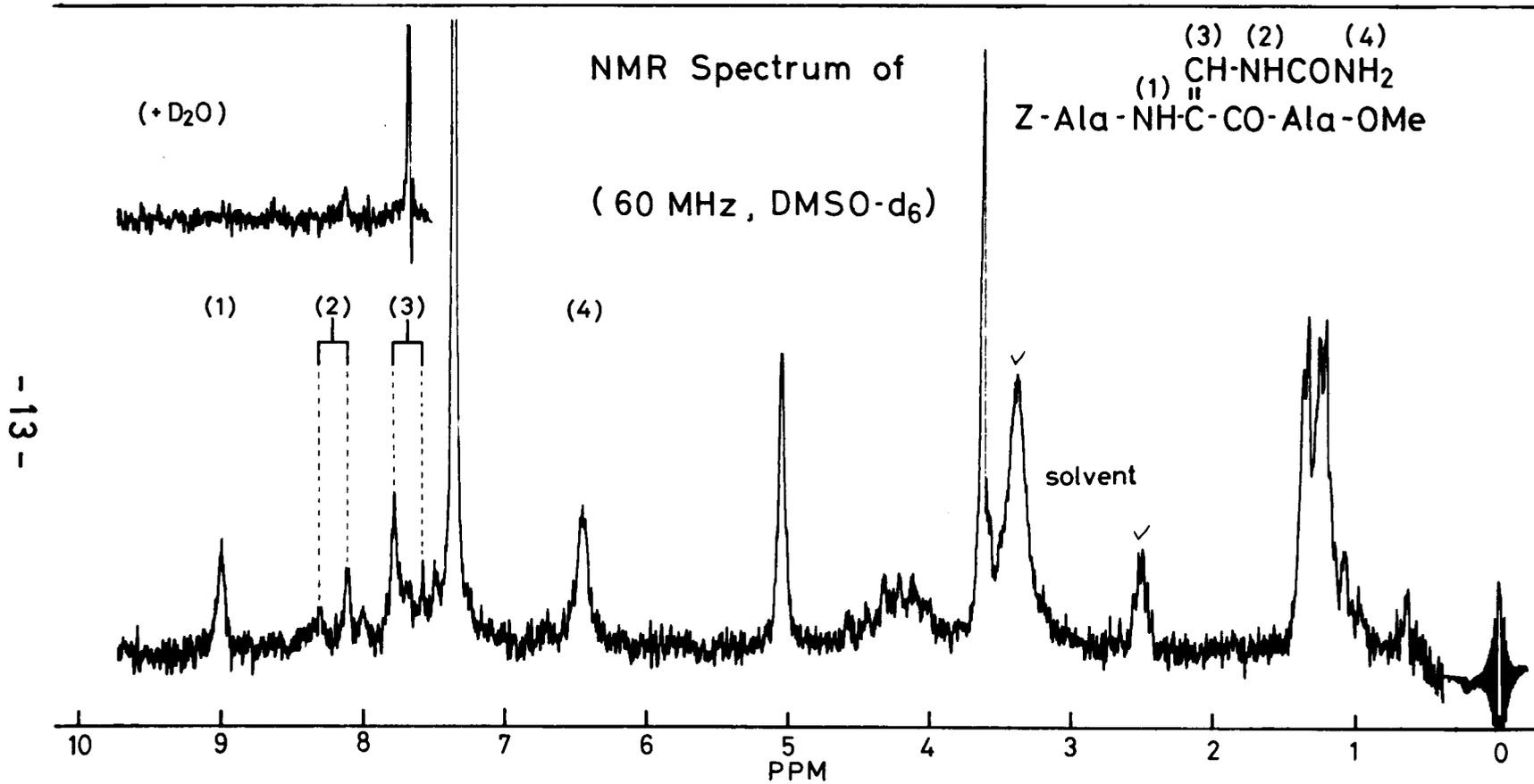


Fig. 2-10

第3章 [Ala³, Ala⁴] ツベラクチノマイシン O の合成

[Ala³, Ala⁴]-Tum O の合成はまず第2章で述べた方法を適用して Dea を含む鎖状ペプタポチドを合成し、このものの環化反応を行った後に Dea を Uda に変換し、最後に分枝部分のβ-リジン残基を導入する方針をとった。この合成計画における最も重要な問題点は鎖状ペプタポチドを環化させる際にどのアミノ酸残基で行うかということである。環化箇所が環状ペプタポチド合成の成功か不成功かを支配する例はポリミキシン合成その他において知られている事実である。²³⁾

そこで、一つの仮説として次のような考察を行った。すなわち、天然の4種の Tum および Tua N のすべてにおいて Cpd の NH と ser³ の C=O との間に分子内水素結合が存在し固定されたコンホメーション

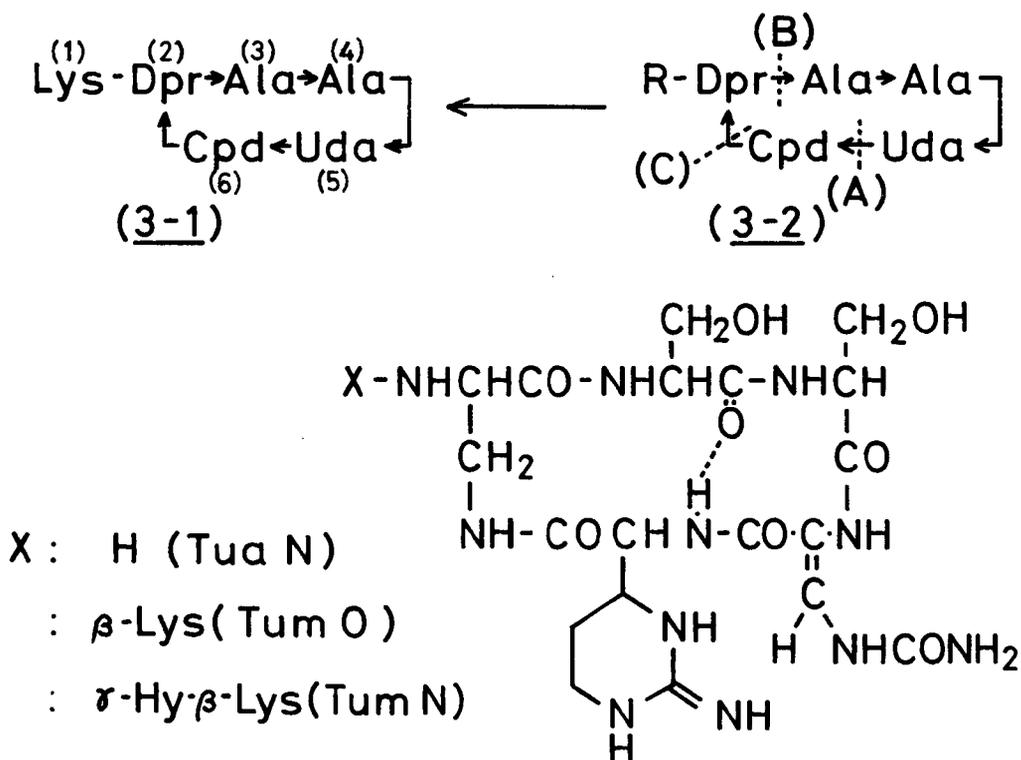


Fig. 3-1

ンをとっていることが結晶のX線解析²⁾ および溶液中のNMRの解析²⁴⁾ などから確実にされている。このことから天然のTumにおいては特にこの位置に分子内水素結合を形成し易い特性を具えているということが明らかであるから、この性質が[Ala³, Ala⁴]類似体にも共通に存在するとすれば環状ペプチド(3-2)への環化反応を行う前の直鎖のペプチドペプチドにおいてもCpdのNHとAla³のC=O間にすでに分子内水素結合が形成され易い可能性がある。もしそうだとすればこのような分子内水素結合は環化反応を行う際に、鎖状ペプチドの遊離のアミノ末端とカルボキシル末端を空間的に近づけるコンホメーションの形成に役立つ、結果的に環化反応に対しきわめて有利な条件を与える可能性がある。一般に現在までに行われた多くのペプチド環化反応においてこのような考え方が試された例を聞かない。そこで、このようなことが実際に環化反応を行う際に起るかどうかを調べる目的でA, B, C, 3ヶ所での環化反応を検討しそれらの環化反応の収率を比較することにより上の仮説が成り立つかどうかを判定したいと考えた。すなわち、ルートB, Cでは環化直前の段階でCpd-Ala³間に分子内水素結合が形成され得るがルートAでは事情が異なっている。

合成原料のアミノ酸の中でCpdは天然のTum Nを加水分解して得られるものを使用したのであるが、この水を大量に得るのが困難なために、その使用量を節約してCpdをペプチドペプチドの合成の最終において導入するルートA, Cについてまず行うことにした。ここでAは修士課程の野本信也氏, B, Cを著者の分担として合成研究を開始した。

3-1 位置Cでの環化反応による [Ala³,Ala⁴]-Tum O の合成の試み

Dpr の選択的保護にはいくつかの報告があるが、^{25) 26)} 収率、選択性の両者を考え合わせて最も適当と思われる Fig. 3-2 に示すような Takagi らの報告²⁷⁾ に従って β-Z-Dpr (3-5) を合成した。このようにして合成した 3-5 を t-ブチル 4,6-ジメチルピリミジル 2-チオールカルボネート (Boc-SDP) を用いて t-ブチルオキシカルボニル (Boc) 化²⁸⁾ して、α-Boc-β-Z-Dpr (3-6) に導きペプチド合成に用いた。

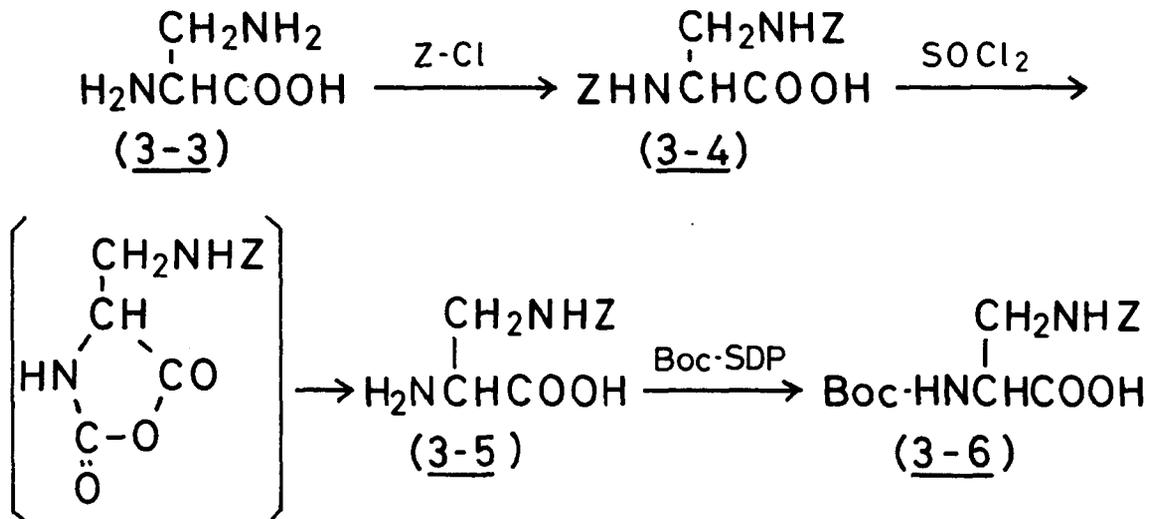


Fig. 3-2

ペプチド合成は、Fig. 3-3 に示すように Dea を C 端として N 端側へ逐次延長しテトラペプチド (3-10) を合成した。次にこのものの C 端側への Cpd の導入を試みた。この際、テトラペプチド (3-10) の C 端アミノ酸残基は Dea でこの残基はラセミ体を用いて合成しており、窮極的には Val に転換されるべきもので、通常のフラグメント縮合法における C 端アミノ酸残基のラセミ化はたとえ起っても最終的には解消されるもので、Cpd の消費量節約のためには合理的な合成方針である。まずテトラペプチドをヒドラジン処理によりヒド

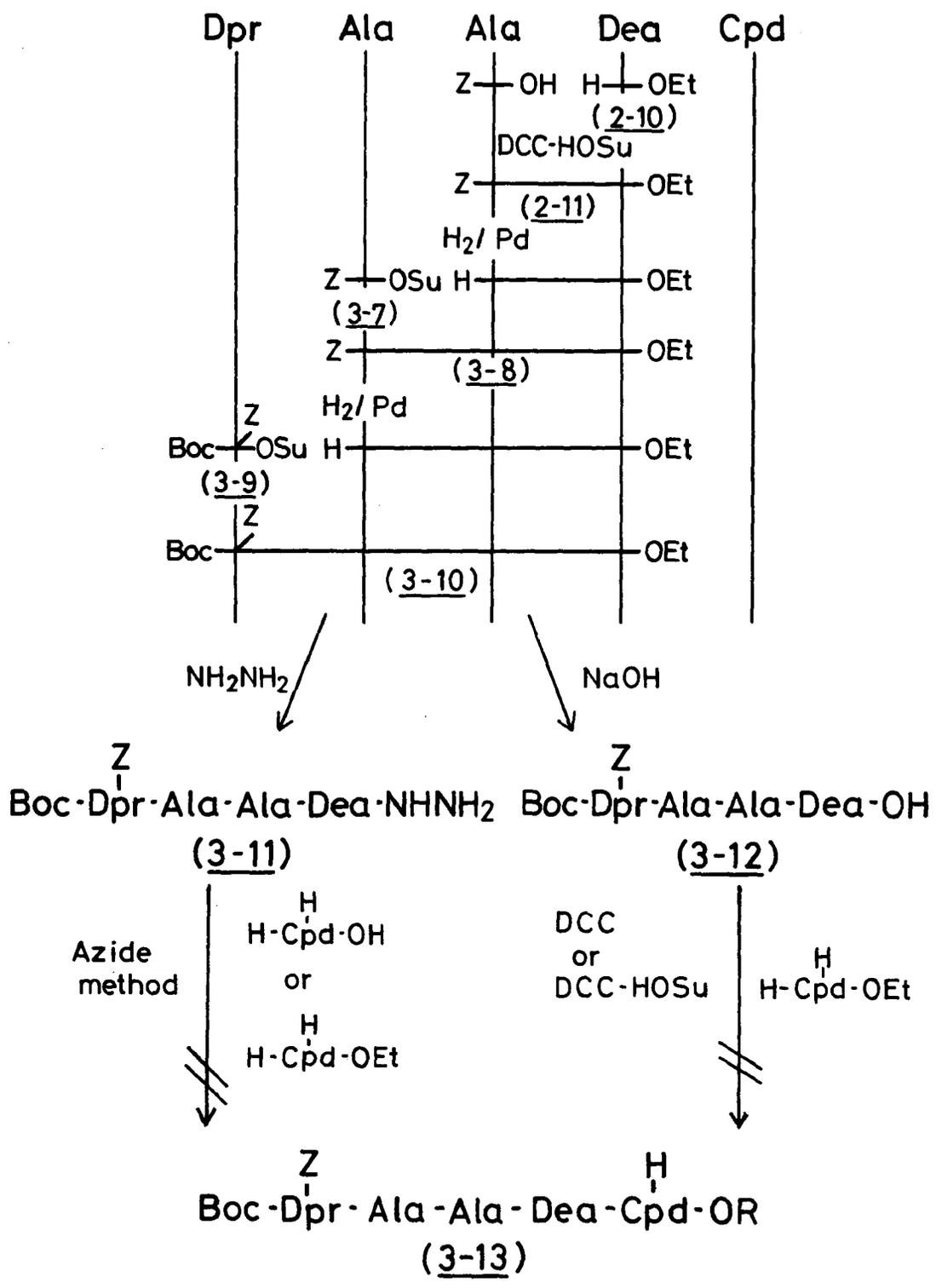


Fig 3-3

ラジド (3-11) とした後、アジド法によりグアニジノ基遊離の $\text{H}-\overset{\text{H}}{\text{Cpd}}-\text{OH}$ なるびに $\text{H}-\overset{\text{H}}{\text{Cpd}}-\text{OEt}$ と水溶液中および有機溶媒中での反応を試みたが目的とするペンタペプチド (3-13) を得ることができなかった。そこでテトラペプチドエステルをケン化し (3-12) とした後に $\text{H}-\overset{\text{H}}{\text{Cpd}}-\text{OEt}$ との縮合を試みた。この場合も収率、溶解度などの点で満足すべきものを得ることができなかった。そこで Cpd のグアニジノ基を保護して縮合反応を行うことにした。この場合、アルギニンの場合にそのグアニジノ基の保護基として最も一般的に用いられているニトロ基によって保護することにした。

アルギニンのニトロ化の報告²⁹⁾に従って $-10^{\circ}\text{C} \sim -20^{\circ}\text{C}$ で発煙硝酸 (Sp. Gr. 1.52)、50% 発煙硫酸を用いて Cpd のニトロ化を行い、70% の収率で N^{G} -ニトロカプロレオマイシジン (3-14) を得ることができた。次にこれをエタノール/塩化水素によりエステル化を行い N^{G} -ニトロカプロレオマイシジンエチルエステル塩酸塩 (3-15) を好収率で得ることができた。

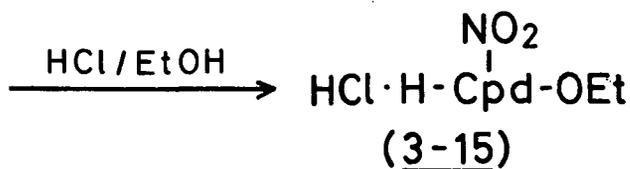
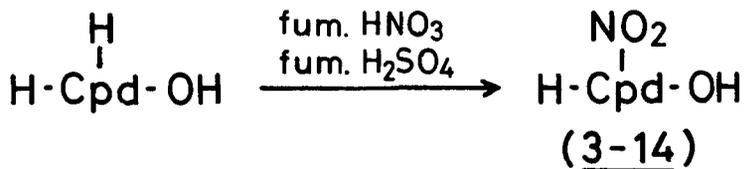


Fig. 3-4

この 3-15 をテトラペプチド (3-12) と縮合させてはじめてペンタペプチドエステル (3-16) を得ることができ、続いてこれをケン化してペンタペプチド (3-17) に導くことができた。

このように合成できたペンタペプチド (3-17) を用いて環化反応を検討した。まず 3-17 を活性エステルにした後接触還元を行って

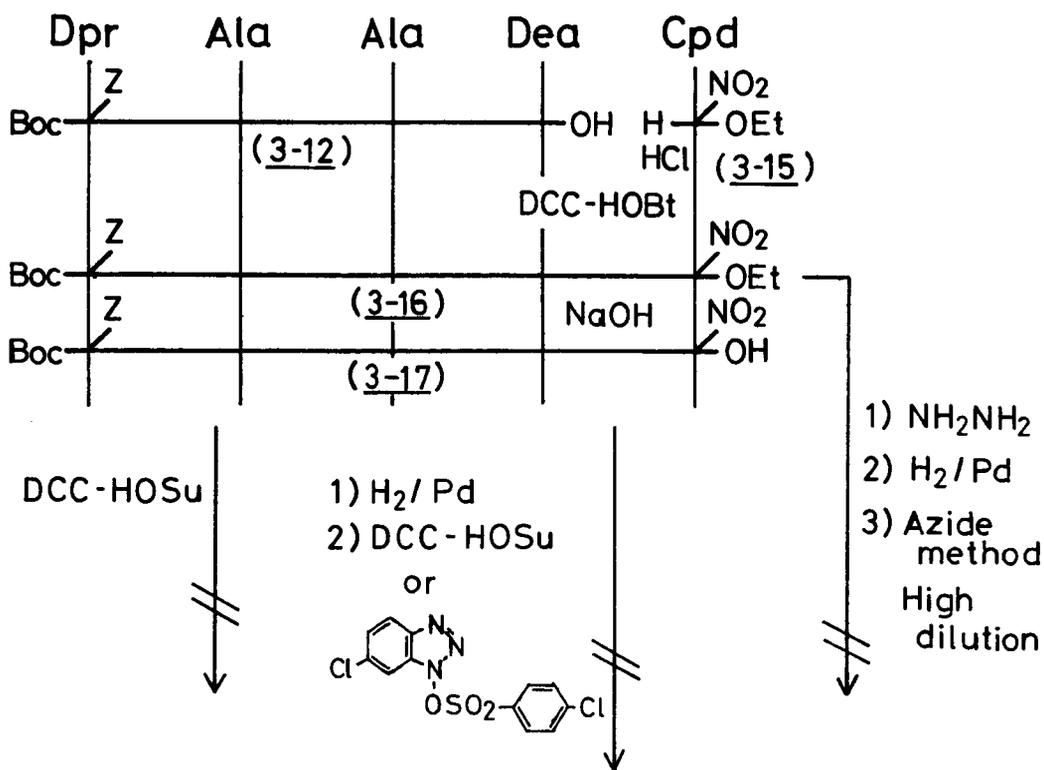
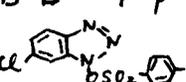


Fig. 3-5

Boc基を残して丕基を選択的に除去した後、環化反応を行う方針で活性エステルとしては、接触還元で安定な1-コハク酸イミジルエステルを採用することにした。しかし実際に3-17にDCC-HOSu法を用いて活性エステル化を試みたところ反応は全く進行しなかった。よってこの方法を断念し丕基を除去した後直接、縮合剤を用いて環化反応を行うことにした。まずペンタペプチド(3-17)をパラジウム-炭素、またはパラジウム黒を触媒として接触還元を行い、それぞれ丕基のみ、または丕基とニトロ基を同時に除去し、DCC-HOSu法および6-クロロ-1-p-クロルベンゼンシルホニルオキシベンズトリアゾール(³⁰⁾)などによって直接環化反応を試みたが常に複雑な生成物を与え単一な環状体を単離するには至らなかった。次にアジド法による環化反応を検討した。すなわち、ペンタペプチドエステル(3-16)をヒドラジドに導いた

後、接触還元、ついでアジド法による環化反応を行ったが目的物は得られなかった。

以上の様に種々の環化反応を試みたにもかかわらず目的物を単離するには至らなかった。このことは、この位置での環化反応は Cpd 残基の立体的なかさ高さのためにカルボニル基の活性化が不利になるのではないかと考え、Cpd のカルボキシル側 (位置 C) における環化反応を断念した。

しかしここで用いた保護基では活性エステル化を行った後に温和な酸性条件で保護基を脱離して環化反応を行うという最も一般的なルートをとることができないため、活性エステルの種類にも制限が加えられる結果となった。そこで後に述べるルートでは、活性エステル化後、酸処理によって保護基が選択的に脱離できるような方針をとることにした。

しかしながら、上の実験によって Cpd 残基の導入に際してグアニジノ基のニトロ基による保護が可能であることが実証できたことは収穫であった。

3-2 位置Bでの環化反応による [Ala³, Ala⁴]-Tum O の合成

位置Cでの環化反応は失敗に終わったが、その場合保護基の選択の不適当があったので、Bの位置での環化反応を行う際には、直鎖ペプチド活性エステルのN端保護基を酸によって切断して環化反応を行えるように保護基を選択することにした。そのために、Dprのα-Nの保護基であるBoc基を残して選択的に緩和な酸処理で切断できる保護基としてo-ニトロフェニルスルフェニル(Nps)基³¹⁾を用いることにした。

合成はFig 3-6に示すようにNps-トリペプチド(3-20)とジペプチドエステル(3-24)とをフラグメント縮合してNps-ペンタペプチドエステル(3-25)を得ることができた。これをケン化しNps-ペンタペプチド(3-26)に変換した後、活性エステル化を行いNps-ペンタペプチド活性エステル(3-27)に導いた。次に塩化水素-テトラヒドロフランによりBoc基を残してNps基のみを選択的に切断した後、ピリジン中60°Cで環化反応を行い38%の収率で目的の環状ペプチド(3-28)を得ることができた。このもののUda化ならびにβ-リジン導入による[Ala³, Ala⁴]-Tum Oの合成については後にまとめて述べる。

次にAの位置での環化反応は主として野本信也氏の担当して行ったものであるが、以下にその合成結果の概略を示す。この合成は、Fig. 3-7に示したようにDeaのN端側へ逐次延長して得たテトラペプチドエステル(3-10)に、さらにN端側へNps-^{NO₂}Cpd-OHを導入してNps-ペンタペプチドエステル(3-29)に導いた。このものをケン化次いで活性エステル化を行ってNps-ペンタペプチド活性エステル(3-31)を得ることができた。このものもルートBの場合と同様に酸処理によりNps基を除去した後、ピリジン中60°Cで環化反応を行って35%の収率で目的の環状ペプチドを得ることができた。このものは先に述べたルートBによって得られたものと融点、薄層ク

Route B

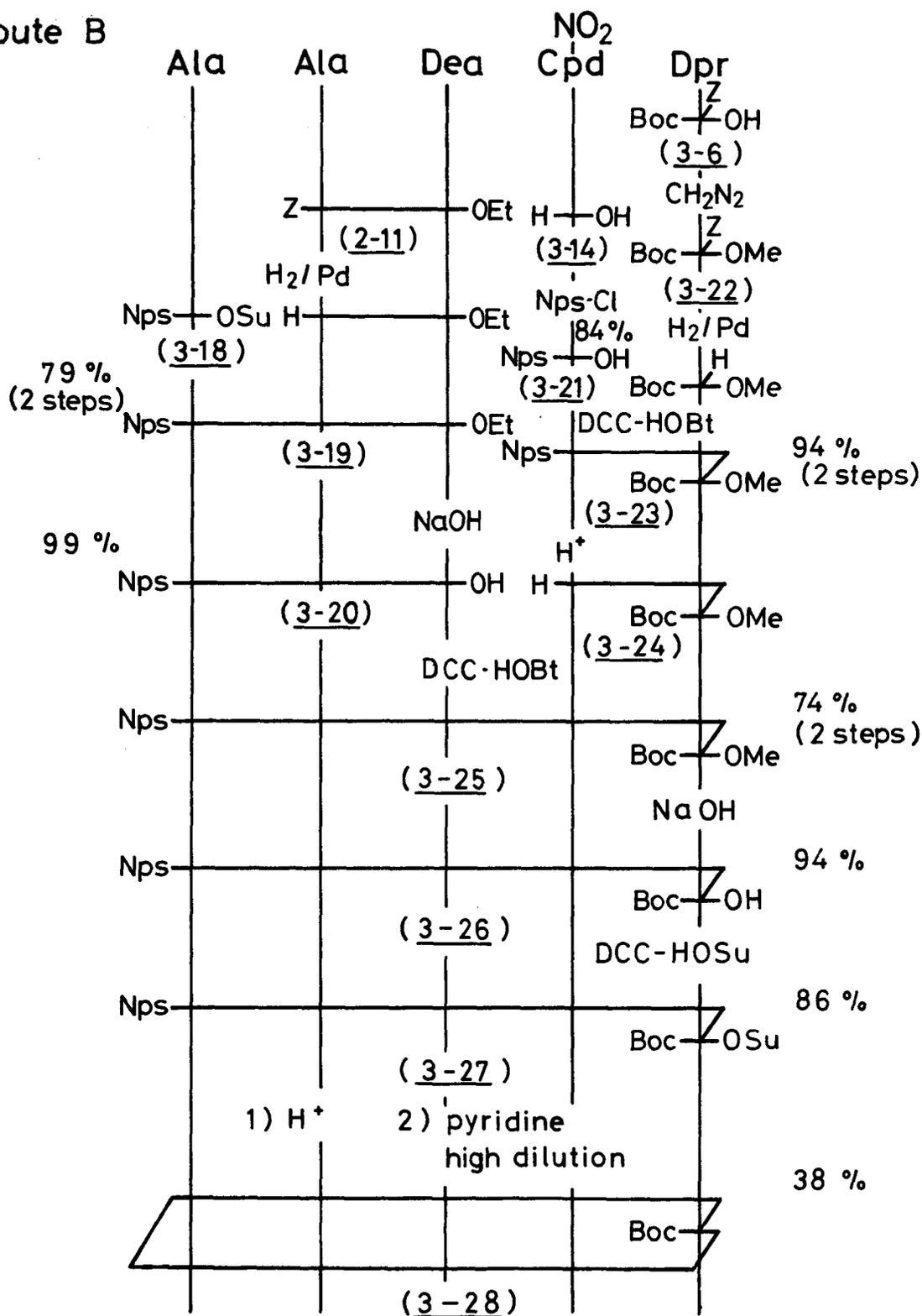


Fig. 3-6

Route A

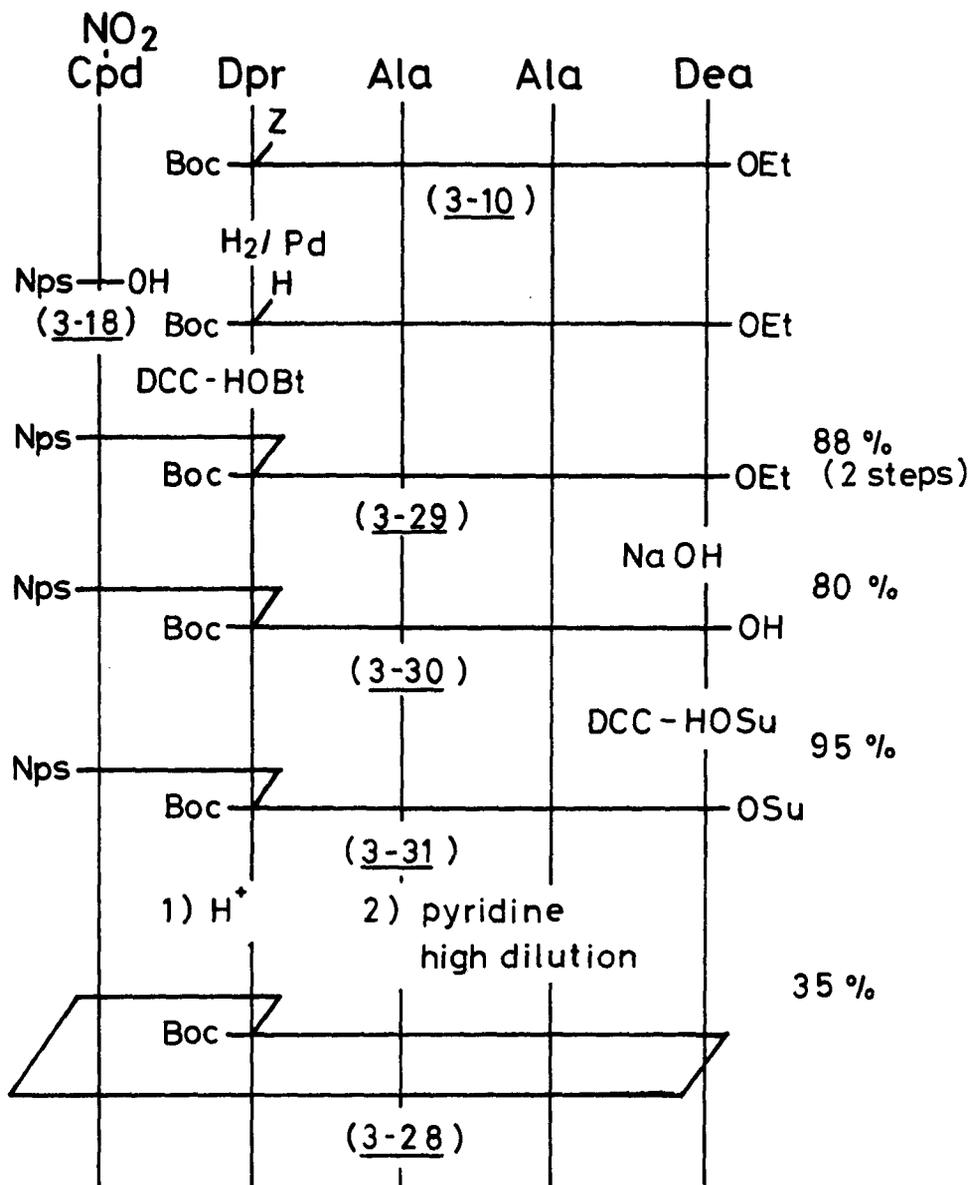


Fig. 3-7

ロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー、NMR (Fig. 3-9) などにおいて完全に一致した。このものの蒸気圧浸透法による分子量測定の結果 743 (計算値 714) という実測値が得られ、計算値とよく一致し、ここに得られたものは多量体ではなく目的とする環状単量体であることが明らかになった。

さてこれらの環化反応における収率は A、B、両ルートでほぼ同等であった (ルート A: 35%, ルート B: 38%) という結果から、第 3 章の最初で述べたような仮説にもとづく収率への影響を判定することができず、その仮説を実証するには至らなかった。現在これら両ルートの環化直前の鎖状ペプチドにおける分子内水素結合の有無、ならびに環化反応溶液中における分子内水素結合の運命などについて検討を加えたいと考えている。

次にこのようにして得た環状ペプチド (3-28) の Dea を Uda への変換反応を行った。まず Pd 黒を用いて接触還元を行ってニトロ基を還元除去し、ついで 1M 塩酸-アセトン (1:1) で 8 分間加熱還流することによりアセタールを除去してから尿素と反応させてウレイド体 (3-32) を得ることができた。このものの紫外吸収スペクトル

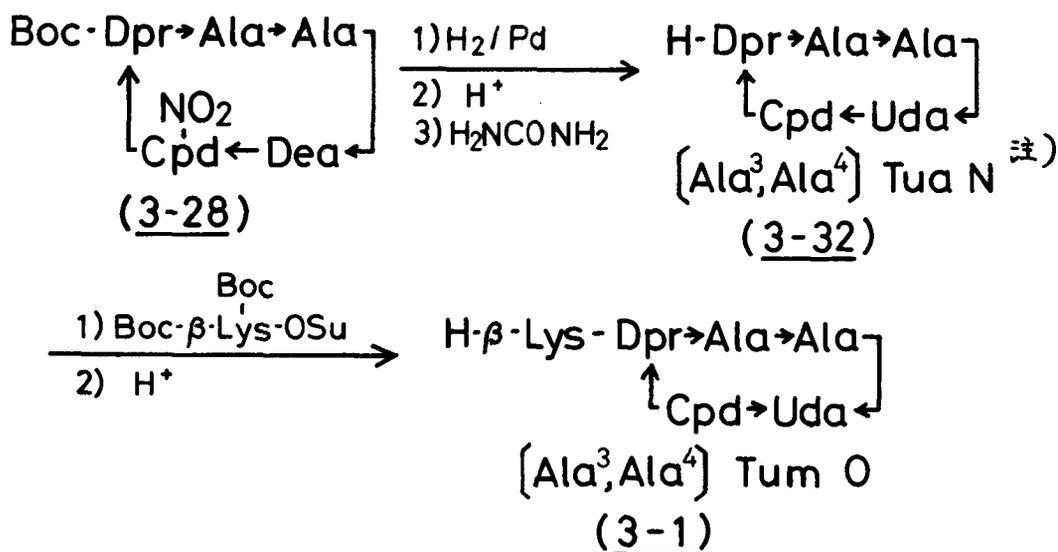


Fig. 3-8

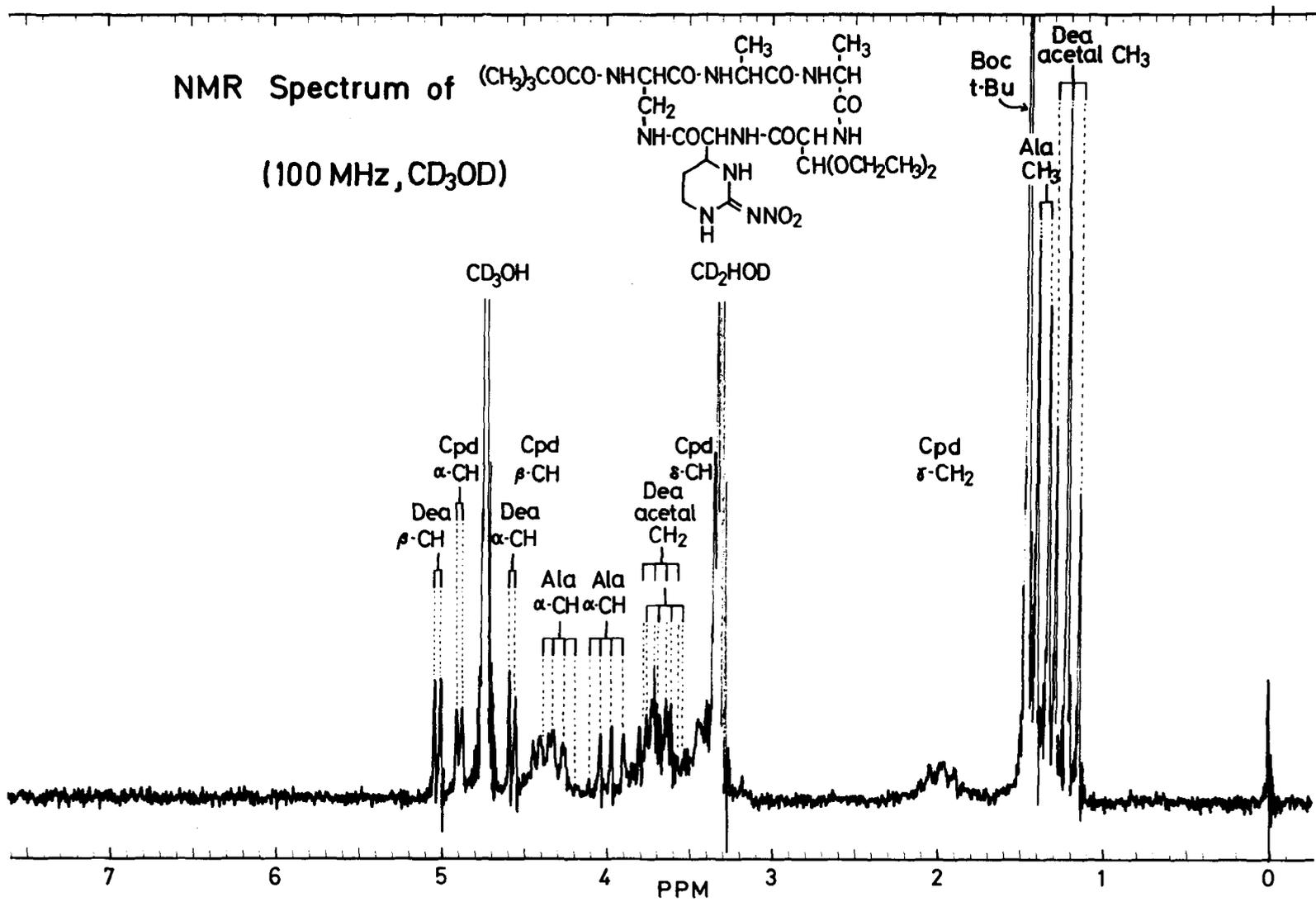


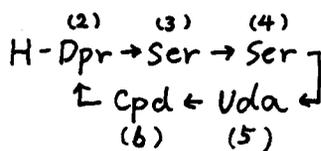
Fig. 3-9

は 268 nm に Uda に特徴的な吸収を示し、さらに NMR (Fig. 3-10) においても δ .0 に Uda のオレフィンプロトンのシグナルを示したので明らかに Dea が Uda に変換されていることは確実である。

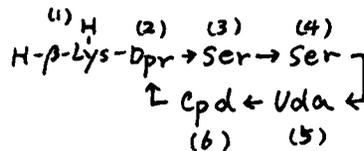
次に最終段階の分枝部 β -Lys の環状ペプチド部への導入を行った。すなわち以上のようにして合成できた環状ペプチド部 (3-32) に Boc- β -Lys-OSu を NNジメチルホルムアミド中で反応させ、ついで塩酸により Boc 基を除去して [Ala³, Ala⁴]-Tum O (3-1) に導くことができた。このものの紫外吸収スペクトルも 3-32 と同様に Uda 特有の吸収を示し、さらに NMR (Fig. 3-13) でも δ .0 に Uda のオレフィンプロトンのシグナルを与えたことは、この反応の間に Uda が変化せずに [Ala³, Ala⁴]-Tum O に導くことができたことを示している。

このようにして [Ala³, Ala⁴]-Tum O の合成が完成したことは第一の目的の最初の材料が出来上がったのみならず、天然物 Tum O の全合成への道がきわめて近くなったという希望を与えてくれた。

注) Tua N に関する構成アミノ酸の番号付けは、誤解を避けるため分枝アミノ酸を有する Tum 類の場合と同様に行った。



Tua N



Tum O

3-3 [Ala³, Ala⁴]-Tum Oのコンホメーションについての考察

[Ala³, Ala⁴]-Tum Oの環状ペプチド部分がどのようなコンホメーションをとっているかを明らかにするためにNMRによる解析を試みた。天然の4種のTum, ならびにTua NについてはすでにNMRの解析が行われ、Tum 群とTua Nとは分枝アミノ酸の有無にかかわらず同様のNMRパターンを示すことが知られ、これらの溶液中でのコンホメーションはX線解析によって解明された立体構造と比較して本質的には変わりなくほとんど同様であることが明らかにされている。²⁴⁾ そこで今回合成したTum 類似体についてもまず分枝アミノ酸のない[Ala³, Ala⁴]-Tua NについてNMRの解析を行った。

D₂O 中でのNMR (Fig 3-10)の測定によりAlaのCH₃, Cpdの δ -CH₂, Cpdの α -CH, Udaの β -CHなどはたかいに明瞭に分離して現われ、さらにデカップリングによりAlaの α -CH, Cpdの β -CH, δ -CH₂などを確実に帰属することができた。さらにジメチルスルホキシド(DMSO)-d₆中でのNMR (Fig. 3-11)によりCpd, Ala³, Ala⁴のNH, UdaのウレイドのNHなどをすべてプロトンシグナルを帰属することができた。

H₂O 中でのNMR (Fig 3-12)でのアミドプロトン領域は天然のTuaと同様のパターンを示しDMSO-d₆中での帰属ならびに天然のTum 群、Tua NなどのNMRを基準にして全アミドプロトンの帰属を行うことができた。次にこれらのプロトンの温度変化に対する化学シフトの移動を測定した。その結果はFig. 3-12に示すようにCpdのアミドプロトンのみが温度変化をうけにくく、さらに重水素交換速度においてもCpdのアミドプロトンのみが遅いことがわかった。このことは[Ala³, Ala⁴]-Tua NにおいてもTua Nと同様に、Cpdのアミドプロトンが分子内水素結合に関与していることを示す事実であり、さらに全アミドプロトンの結合定数の大きさも天然のそれらにきわめて近似しており環状ペプチド骨格は天

然の T_{ua} N と同様なコンホメーションをとっているを結論することができた。

天然物からの T_{ua} N の NMR パターンは T_{um} O または N と比べて類似することからここに合成した [Ala³, Ala⁴]-T_{ua} N の NMR より類推して合成 [Ala³, Ala⁴]-T_{um} O も同様なコンホメーションをとることが間違いないと考えられるが、これを確かめるために [Ala³, Ala⁴]-T_{ua} N および [Ala³, Ala⁴]-T_{um} O の両者の ORD, CD 曲線 (Fig. 3-14) を測定した。その結果この両者はたがいに互いにて一致したパターンを与えるのみならず、それはまた天然の T_{um} 群、T_{ua} N すべてに共通のパターンであることが明らかとなり、両 Ser 残基を Ala 残基に置換することによって分子全体のコンホメーションには変化をもたらしえないことを証明することができた。

以上述べた様に、ここに合成した [Ala³, Ala⁴]-T_{ua} N, [Ala³, Ala⁴]-T_{um} O も天然の T_{um} と同様なコンホメーションをとっていると考えられるのでこれらのものの抗菌力とコンホメーションとの関係について深い興味をもたれた。

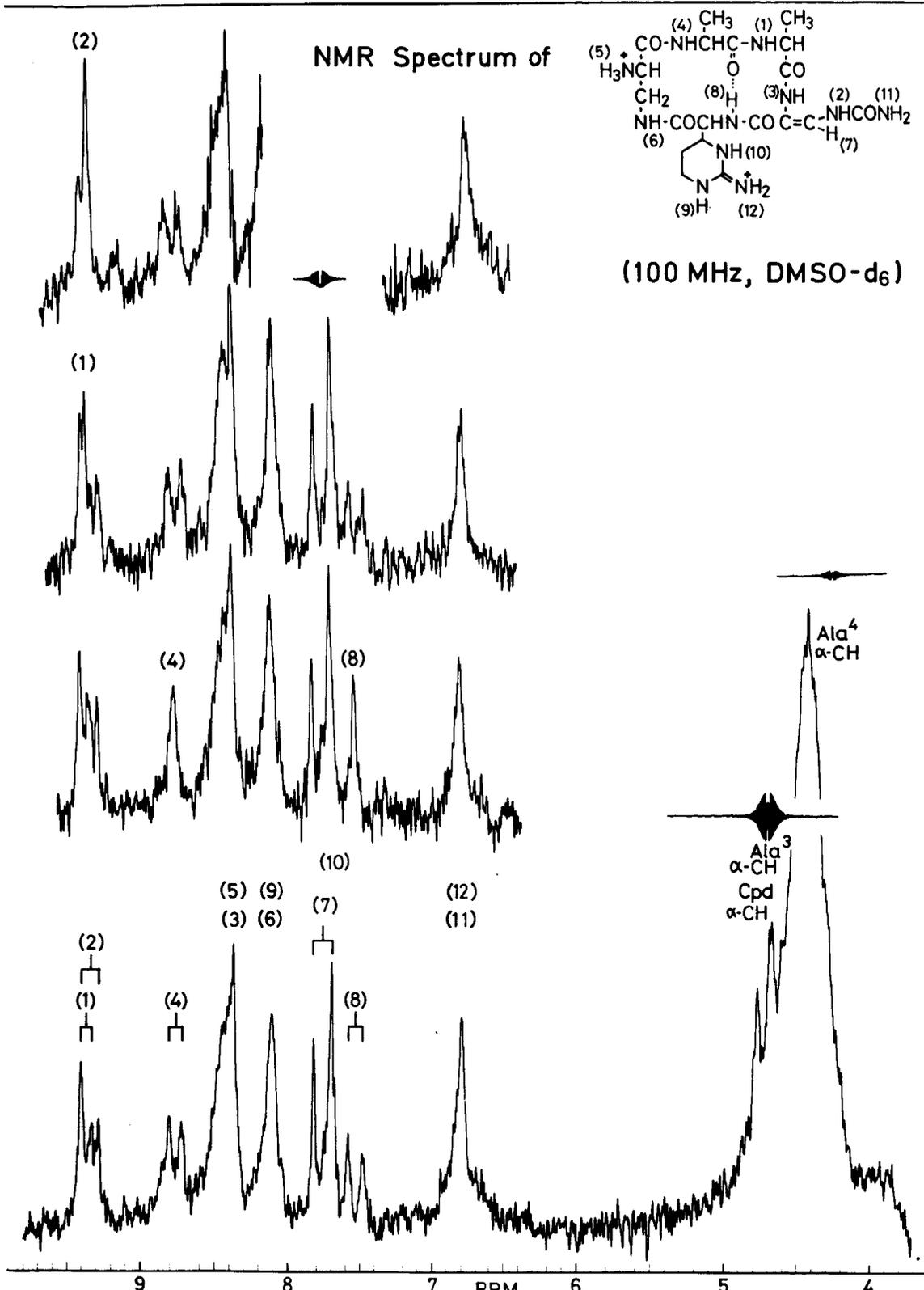


Fig. 3-11

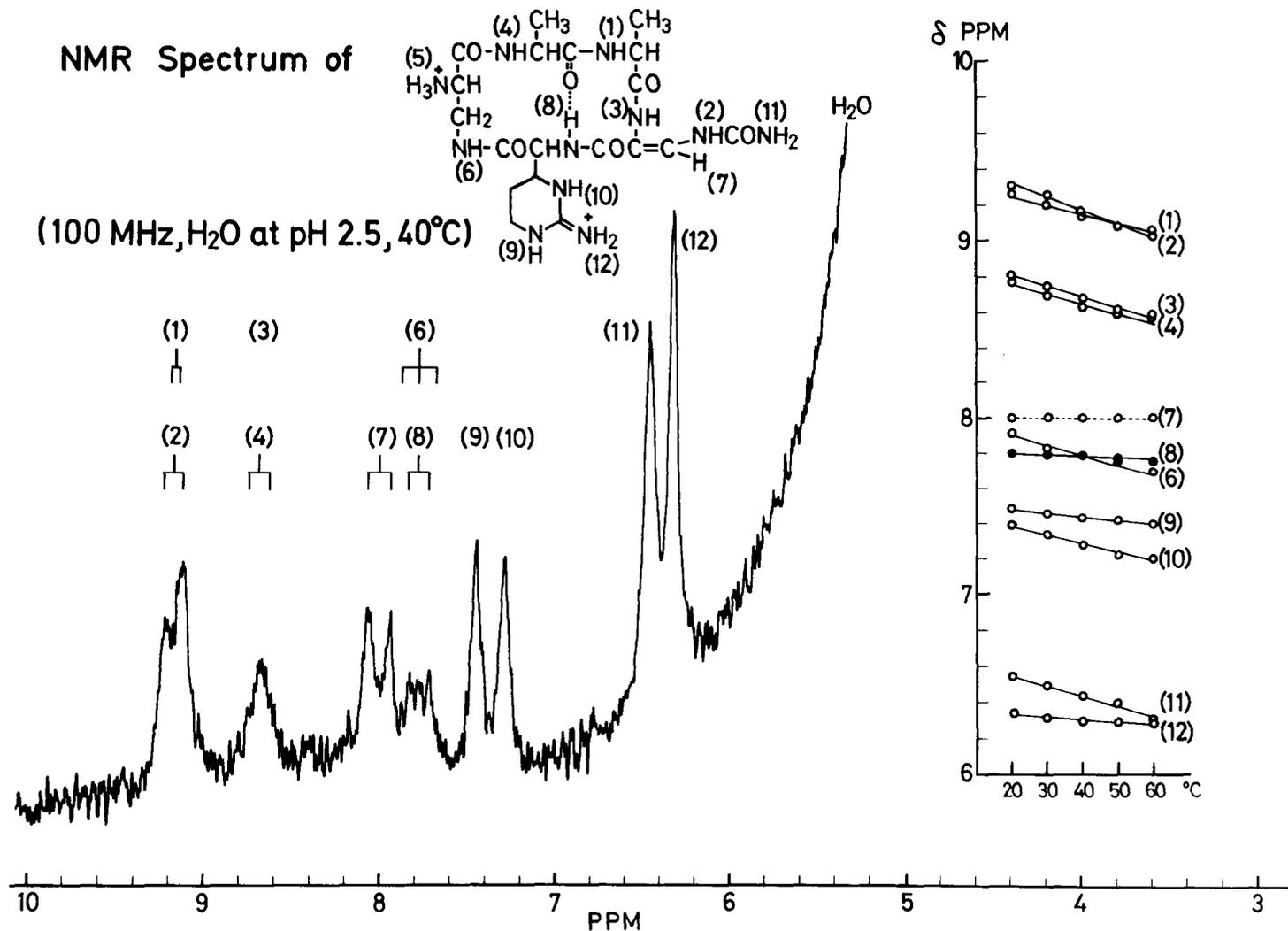


Fig. 12

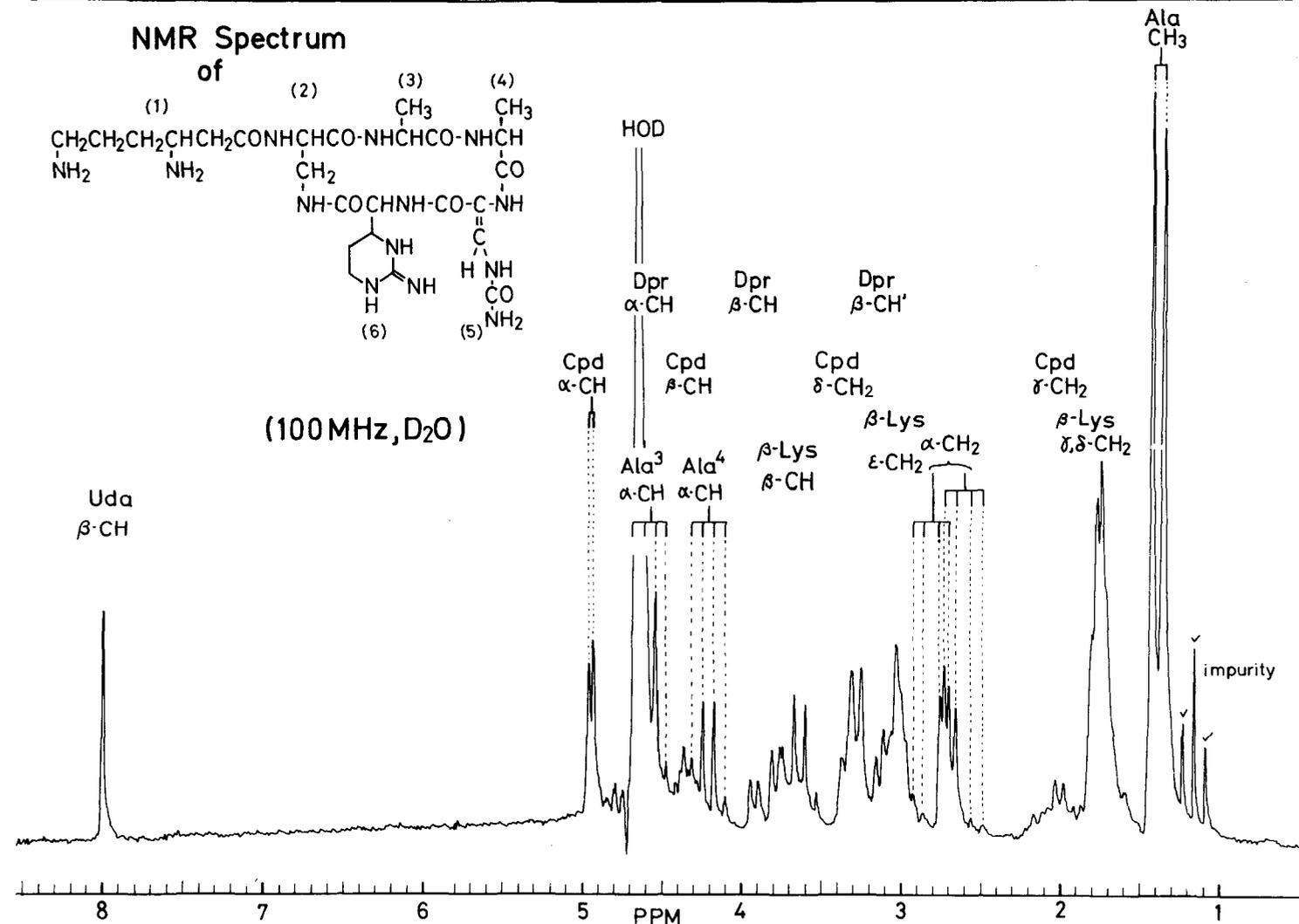


Fig. 3-13

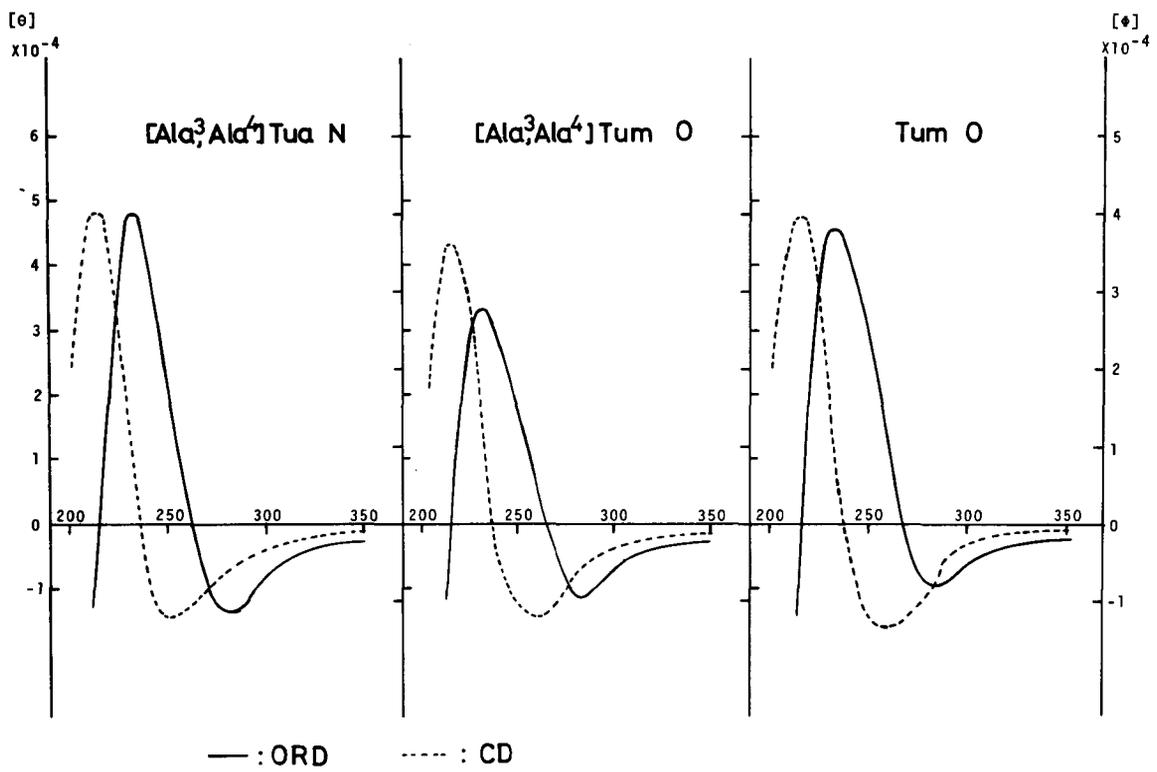


Fig. 3-14

3-4 [Ala³, Ala⁴]-Tum O の構造と抗菌作用との関係についての考察

3-2 で述べたようにして合成した [Ala³, Ala⁴]-Tum O ならびにその環状ペプチド部 [Ala³, Ala⁴]-Tua N の抗菌作用の試験結果を Table 3-2 に示す。[Ala³, Ala⁴]-Tum O においては天然の Tum 類と比較して若干弱いがほぼ同等の強度でかつ同じ抗菌作用のパターンを示した。[Ala³, Ala⁴]-Tua N は *Mycobacterium* ATCC 607 に対して天然の Tum N の環状ペプチドに相当する Tua N に比較してやや弱い明瞭な抗菌作用を示した。このように Ser³, Ser⁴ の水酸基を共に水素に置換した類似体において抗菌作用が現われたという事実はこれら水酸基が抗菌作用発現に必須ではないという一つの事実を示したことになる。

さらにここに合成した [Ala³, Ala⁴]-Tua N および [Ala³, Ala⁴]-Tum O は 3-3 で述べたようにその NMR スペクトルの解析より天然の Tum 類ならびに Tua N と同様な環状部骨格のコンホメーションをとっていることが明らかになったので、抗菌作用発現には分子内水素結合により固定された環状ペプチド構造が必要であると考えられる。しかしながら第5章の最後にも述べるが抗菌作用を持たない半合成誘導体の ORD, CD 曲線にも天然の活性化合物と同様なパターンを示し、それは天然の Tum 群と同様のコンホメーションをとっていると推定される。したがって Tum およびその類似体ペプチドにおいては分子内水素結合により固定された環状ペプチド構造の存在は、抗菌力発現に対し必須ではあるが、そうだからといって十分条件にはならないと判断せざるを得ない。

人型結核菌(感受性菌, Viomycin 100% 耐性菌)、BCG(感受性菌, Tum N 100% 耐性菌)に対する抗菌作用の測定結果を Table 3-3 に示す。それによると感受性菌に対しては抗菌作用を示すが耐性菌に対しては Tum 類と比較してより強い抗菌作用は現われなかった。

Minimum Inhibitory Concentration of
[Ala³Ala⁴]-Tua N and [Ala³Ala⁴]-Tum O

Test organisms	[Ala ³ Ala ⁴]-Tua N	[Ala ³ Ala ⁴]-Tum O	Tum N
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	>100	>100	>100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> sp-a1-1	>100	>100	>100
<i>Streptococcus pyogenes</i> N.Y.5	100	>100	>100
<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	>100	>100	>100
<i>Micrococcus flavus</i> ATCC 10240	>100	>100	>100
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> P.W.8	100	12.5	6.3
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	>100	50	25
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	>100	100	50
<i>Escherichia coli</i> B	>100	100	50
<i>Salmonella typhosa</i> H 901	>100	100	50
<i>Salmonella paratyphi</i> PA 41-N-22	>100	>100	>100
<i>Salmonella enteritidis</i> Gaertner	>100	>100	100
<i>Shigella flexneri</i> type 3a	>100	>100	>100
<i>Shigella sonnei</i> E33	>100	>100	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	>100	100	50
<i>Proteus vulgaris</i> OX 19	>100	>100	50
<i>Serratia marcescens</i>	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM 1095	>100	>100	>100
<i>Mycobacterium</i> ATCC 607	50	12.5	6.3

Table 3-2

以上の結果から、Serの水酸基の有無は耐性菌に対する抗菌作用には期待した影響が認められなかったと結論することができ、したがって薬剤耐性獲得機構にも抗生物質の分子構造の変化が関与しているとするれば、それはSerの水酸基には無関係であると推論することができた。言い換えると、序論でも述べたように耐性菌がSerの水酸基を修飾することにより抗生物質を無毒化するという機構は否定されるという結論に導かれる。

Susceptibility of human tubercule bacilli and B.C.G.

	conc. g/ml	[Ala ³ Ala ⁴]-	[Ala ³ Ala ⁴]-	Tum N	Tum O
		Tua N	Tum O		
人型結核菌 感受性菌 I	C	++	++	++	++
	12.5	++	++	+	+
	25	+	+少	-	-
	50	-	-	-	-
	100	-	-	-	-
人型結核菌 感受性菌 II	C	++	++	++	++
	12.5	++	++	++	++
	25	++	++	+少	+少
	50	+少	+少	-	-
	100	-	-	-	-
人型結核菌 耐性菌 I (Viomycin 100g)	C	++	++	++	++
	12.5	++	++	++	++
	25	++	++	++	++
	50	+	+	+	+少
	100	-	-	+	-
人型結核菌 耐性菌 II (Viomycin 100g)	C	+++	+++	+++	+++
	12.5	+++	+++	+++	+++
	25	+++	+++	++	++
	50	+++	++	+	++
	100	++	++	-	-
B. C. G. 感受性菌	C	++	++	++	++
	12.5	++	++	+	+
	25	+	+	-	-
	50	-	-	-	-
	100	-	-	-	-
B. C. G. 耐性菌 (Tum N 100g)	C	+++	+++	+++	+++
	12.5	+++	+++	+++	+++
	25	+++	+++	+++	+++
	50	+++	+++	+++	+++
	100	+++	+++	+++	+++

+ : growth , - : no growth

1% Ogawa egg medium

Table 3-3

現在、[Ala³]-Tum O, [Ala⁴]-Tum Oの抗菌作用を測定中であつて、その結果を併せ考えることによりさらに興味ある議論が行えるのではないかと期待している。

第4章 ツベラクチノマイシン O の全合成

Tum O (4-1) は Tum A および B 産生株の変異株より Tum N に随伴する微量成分として得られた³⁾ものであって、Fig. 1-1 でも示したように Tum 群の中ではアミノ酸組成が最も単純なものである。このものの 2HBr·HCl 塩の結晶の X 線解析が Tum 群抗生物質の全構造解明の端緒になったことは既に第1章で述べた。このものの構造を全合成的にさらに確かめる目的以外に Tum O は特異なアミノ酸を多く含むきわめてユニークな環状ペプチドであることから、その全合成への挑戦はペプチド化学としても価値あるものと考え、その全合成を行った。

第3章でも述べたように、[Ala³, Ala⁴]-Tum O の全合成にまず成功したので同様の手法を天然物 Tum O の合成にも適用する方針をとった。しかし、[Ala³, Ala⁴]-Tum O と違って、新たに問題とすべきは Ser の水酸基の保護である。一般的に環化反応の際には保護基がない方が立体的には有利であると考えられる。しかし一方その合成前段階においての縮合反応、ケン化などの際の溶解度、ならびに環化反応のための活性エステル化における副反応などを考慮して、水酸基を保護した上でペプチド合成を行うことにした。Ser 水酸基の保護基としてはベンジル基ならびに t-ブチル基が考えられるが、この場合、環化反応後に接触還元、酸処理を行うのでそのいずれも使用可能である。そこで L-Ser から収率よく導ける³²⁾ t-ブチル基を用いることにした。

合成は第3章 (Fig. 3-1) で述べたルート A に相当する位置で環化反応を行い、Fig. 4-1 に示すように合成した。すなわち、Dea の N 端側へ逐次ペプチド鎖を延長してトリペプチドエステル (4-5) を得た。これとは別に第3章で合成したジペプチドエステル (3-23) をケン化してジペプチド (4-2) を得た。次にトリペプチドエステ

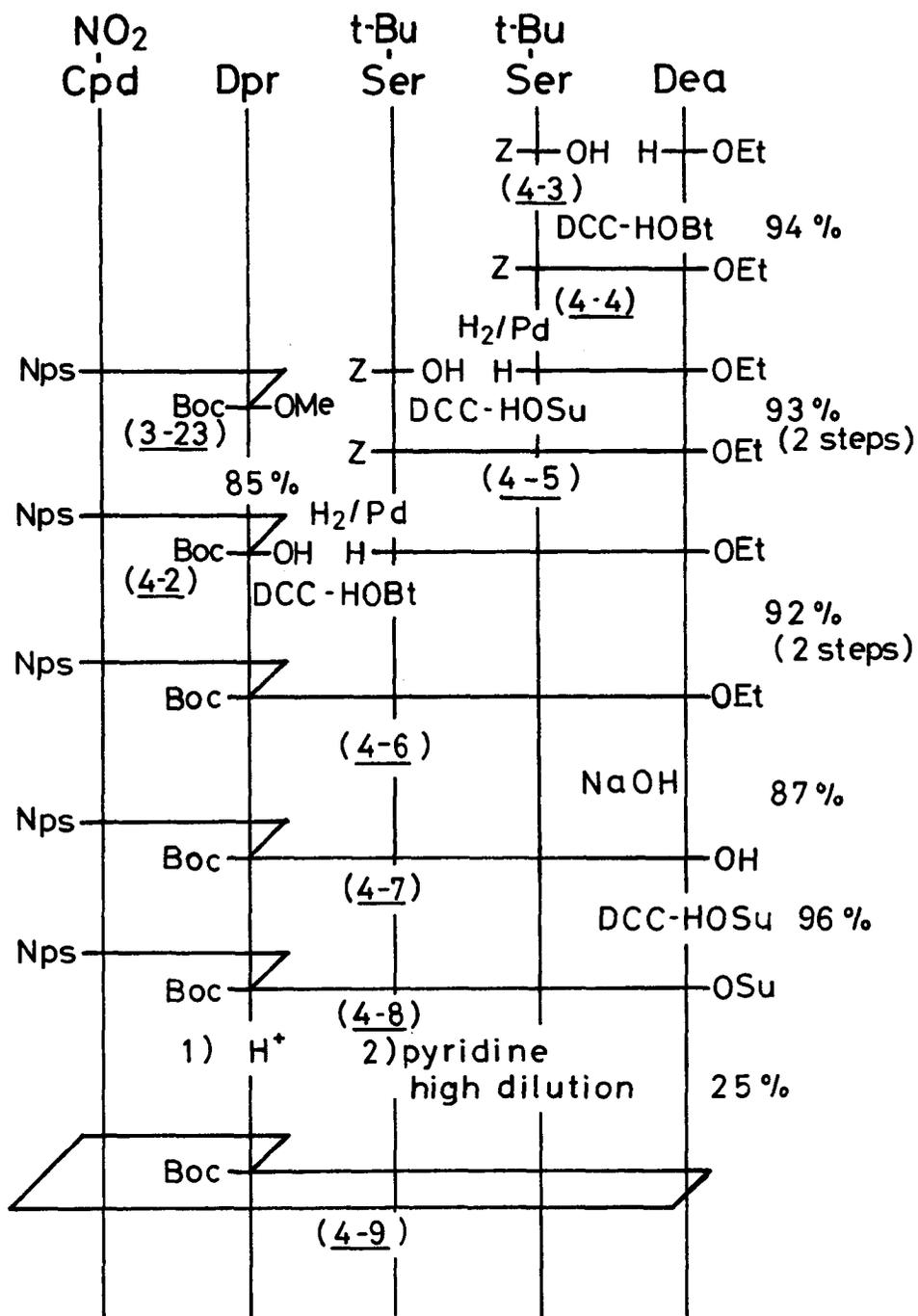


Fig. 4-1

ル (4-5) の Et 基を接触還元により除去したものをジペプチド (4-2) とフラグメント縮合して Nps-ペプタペプチドエステル (4-6) とし、これをケン化ついで活性エステル化を行い Nps-ペプタペプチド活性エステル (4-8) を得た。4-8 の Nps 基を酸により選択的に脱離した後ピリジン中、高度希釈条件下に 60°C を 3 日に室温 (約 15°C) でそれぞれ環化反応を行い両者とも同程度の収率 (25%) で同じ環状ペプチド (4-9) を得ることができた。このものの蒸気圧浸透法による分子量測定の結果 811 (計算値 849) という実測値が得られ計算値とよく一致し、ここに得られたものは多量体ではなく目的とする環状単量体であることが明らかになった。

次にこのものを Tua N に導くために、[Ala³, Ala⁴]-Tum O の合成の場合と同様に、まず接触還元してニトロ基を除去し、次にアセトン-1M 塩酸 (1:1) で 10 分間加熱還流してアセタール保護基を脱離した後、尿素を反応させた。このようにして得られた粗生成物は薄層クロマトグラフィーで 2~3 スポットをあたえた。このものの一部を改めてトリフルオロ酢酸 (TFA) 処理すると、1 スポットに変化することから、Ser の t-ブチル基が上の条件では脱離不十分

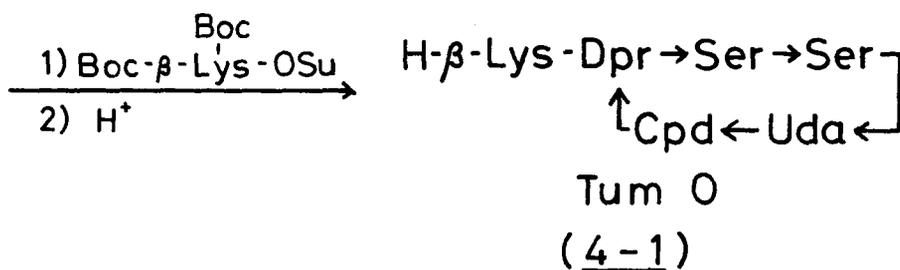
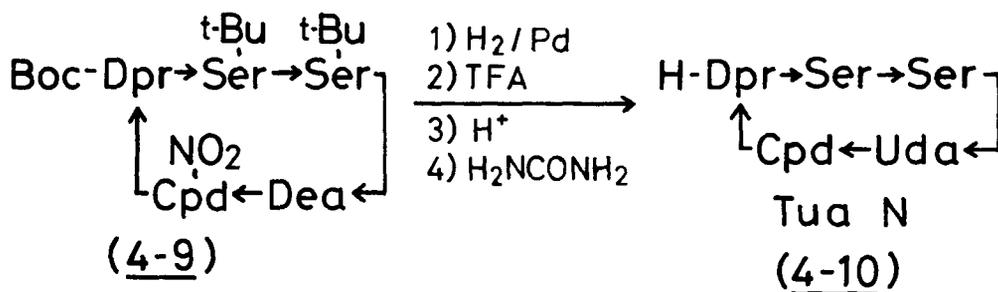


Fig. 4-2

であって完全に除去するためにはTFA処理を行う必要があると考えた。しかし天然物から導かれたTua Nの結晶は二塩酸塩として得られているので、合成品も塩酸塩に導くために順序をかえて塩酸処理の前にTFA処理を行った。すなわち Fig 4-2 に示すように、接触還元が続いて30分間、室温でTFA処理を行い、ついでアセトン-2M塩酸(1:1)で10分間加熱還流を行い尿素を反応させて68%の高収率でTua Nを得ることができた。このものはTable 4-1に示すように $[\alpha]_{365}$ 、紫外吸収スペクトル、融点(混融)、薄層クロマトグラフィー、口紙電気泳動、NMR (Fig.4-3)、抗菌作用 (Table 4-2)などにおいて、天然より導かれたTua Nに完全に一致した。

次にこのものからTum Oへの誘導を行った。この反応は天然物において既に経酸清みの反応であるが、その場合と同様にTua NにBoc- β -Lys-OSuを縮合し、ついで塩酸により保護基を脱離してTum Oを純粋に得ることができた。このものは天然のTum Oと融点(混融)、 $[\alpha]_D$ 、紫外吸収スペクトル、薄層クロマトグラフィー、口

		Tua N		Tum O	
		synthetic	natural	synthetic	natural
mp (°C)		263-264 (dec.)	263-264 (dec.)	240-242 (dec.)	240-242 (dec.)
		263-264 (mixed) (dec.)		240-242 (mixed) (dec.)	
[α]		$[\alpha]_{365}^{18} -54.0^\circ$ (c0.50, H ₂ O)	$[\alpha]_{365}^{18} -50.8^\circ$ (c0.50, H ₂ O)	$[\alpha]_D^{16} -16.0^\circ$ (c0.53, H ₂ O)	$[\alpha]_D^{16} -16.2^\circ$ (c0.51, H ₂ O)
UV (nm)	H ₂ O	268 (ϵ 26,600)	268 (ϵ 22,000)	268 (ϵ 25,500)	268.5 (ϵ 23,800)
	0.1M HCl	268 (ϵ 26,700)	268 (ϵ 22,000)	268 (ϵ 26,500)	269 (ϵ 24,900)
	0.1M NaOH	285 (ϵ 17,000)	286 (ϵ 14,000)	286 (ϵ 17,400)	288 (ϵ 13,200)

Table 4-1

紙電気泳動などが完全に一致した。

以上によって Tumor O の全合成が完成し、X線解析による構造決定などと合わせて Tumor O の構造が合成的にも完全に確立されたことになった。

Minimum Inhibitory Concentration of Tuberactinamine N

Test Organisms	synthetic	natural
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	>100	>100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> sp-a1-1	>100	>100
<i>Streptococcus pyogenes</i> N.Y.5	100	100
<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	>100	>100
<i>Micrococcus flavus</i> ATCC 10240	>100	>100
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> P.W.8	50	25
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> B	>100	>100
<i>Salmonella typhosa</i> H 901	>100	>100
<i>Salmonella paratyphi</i> PA 41-N-22	-	>100
<i>Salmonella enteritidis</i> Gaertner	>100	>100
<i>Shigella flexneri</i> type 3a	>100	>100
<i>Shigella sonnei</i> E33	>100	>100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	>100	100
<i>Proteus vulgaris</i> OX 19	>100	>100
<i>Serratia marcescens</i>	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM 1095	>100	>100
<i>Mycobacterium</i> ATCC 607	25	12.5

Table 4-2

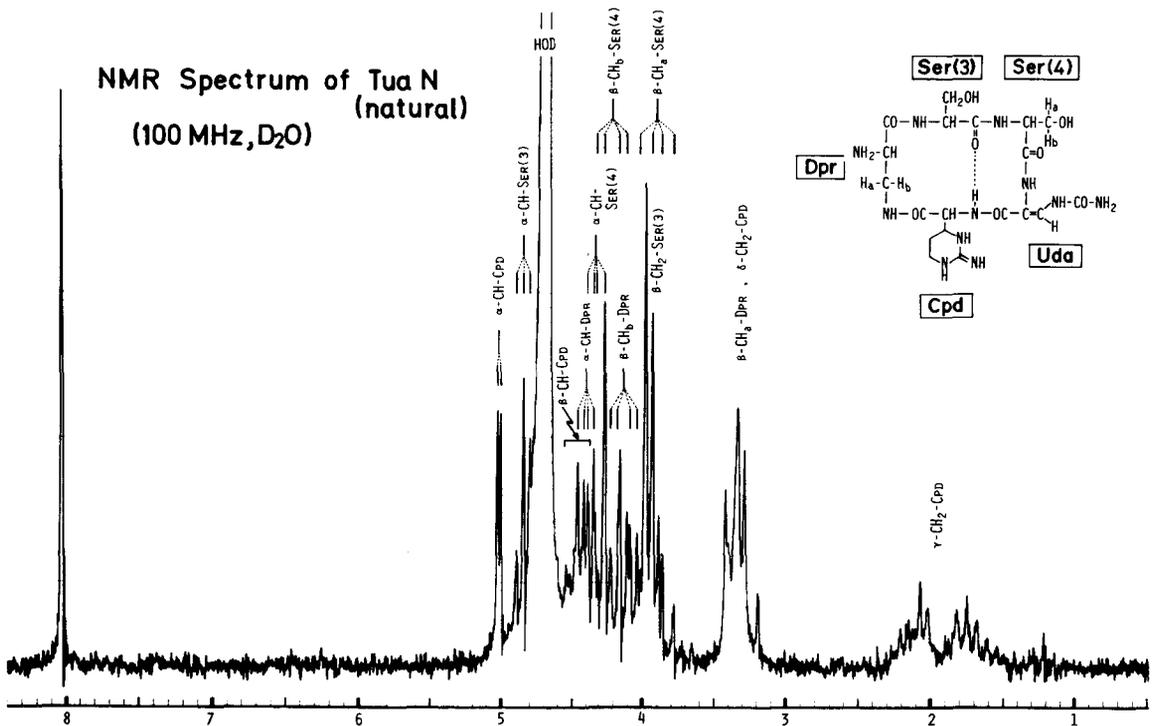
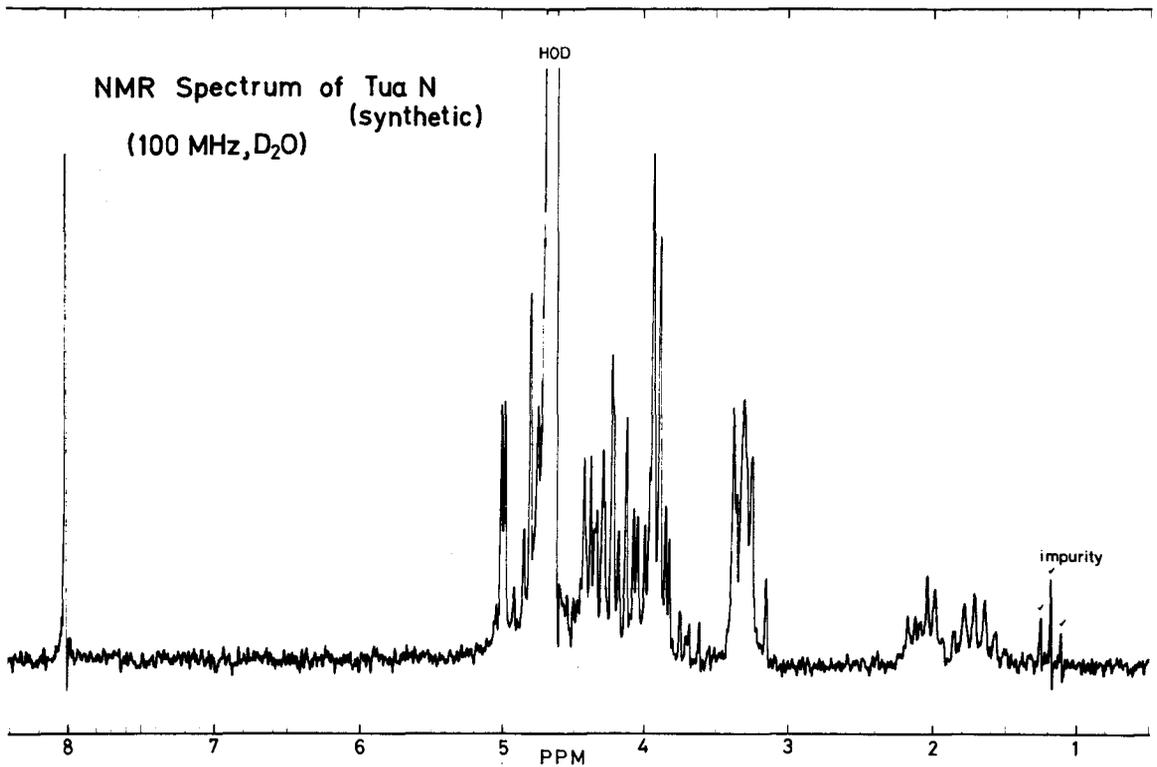


Fig. 4-3

第5章 半合成ツブラクチノマイシン誘導体の合成、なすびに その抗菌力発現とその構造との相関関係

5-1 半合成 Tum の合成

若宮らは Tum 群抗生物質の一種 Tum N から尿素存在下に酸処理を行って、分枝部 α -Hy- β -Lys を選択的に脱離して環状ペプチド部の Dpr の α アミノ基が遊離の環状ペプチド Tua N が結晶として得られることを明らかにした。¹⁵⁾ この Tua N の遊離のアミノ基に改めて種々の脂肪酸、アミノ酸、ペプチド類をそれぞれ導入すれば、種々の半合成 Tum 類似体を創製できる可能性が生まれてきた。

そこで私は天然に存在する Tum 群より強い抗菌力、あるいは異った抗菌カスアクトルを有するものを求めて、実際に種々の半合成 Tum 類似体を合成し導入した分枝部分の構造が抗菌力発現にどのような影響をおよぼすかを明らかにし、Tum における生理活性と構造との相関関係の解明の一助としたいと考えた。

これらの半合成 Tum 誘導体の合成計画はアミノ酸の一部とペプチドの導入を私が担当し、脂肪酸およびアミノ酸の一部を東洋醸造研究所が担当して合成に着手した。

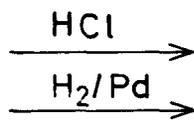
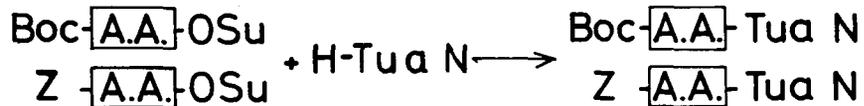
Tua N へのアシル基の導入は、第3章、第4章において述べたと同様の方法で、Fig. 5-1 に示すように活性エステル $RCOOSu$ をジメチルホルムアミド中で縮合することにより好収率で行うことができた。これらアミノ酸、ペプチドなどの保護基である Boc 基、あるいは α 基はいずれもそれぞれ酸、または接触還元によって除去することができる。¹⁵⁾ 実際にはアミノ酸の導入には両保護基を併用した。

合成ルートは Fig. 5-1 に示す通りで、脂肪酸の導入は酸塩化物、酸無水物、活性エステル (1-コハク酸 イミジルエステル)

Fatty acid :



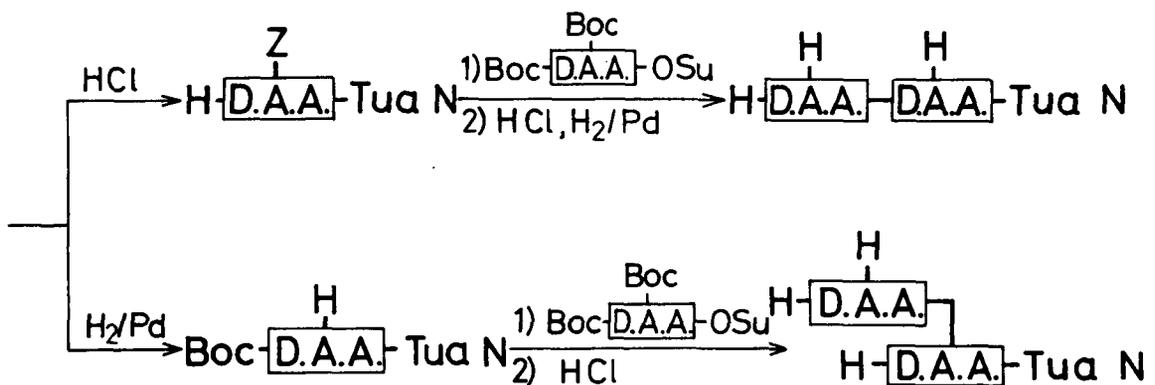
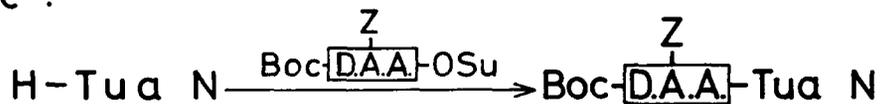
Amino acid :



Tua N : Tuberactinamine N

A.A. : Amino acid

Peptide :



Tua N : Tuberactinamine N

D.A.A. : Diamino Acid

Fig. 5-1

などを用いて行った。アミノ酸は Boc 基又は Z 基で保護して、1-ユハク 酸イミジルエステルに変換し、Tua N と縮合した。ついで塩酸又は接触還元により保護基を脱離して目的物を得た。ペプチド導入反応はまず単一アミノ酸を Tua N と縮合し、第二のアミノ酸をさらにその N 端に結合する方針をとった。たとえば、Tua N に Boc 基および Z 基で選択的に保護したジアミノカルボン酸の活性エステルを縮合し、塩酸又は接触還元によって Boc 基又は Z 基を選択的に除去し、次いでジ-Boc-ジアミノカルボン酸活性エステルを縮合した。得られた保護ジペプチド Tua N を保護基が Boc 基のみの場合は塩酸で、Z 基と Boc 基が共存する場合には塩酸中で接触還元して目的物を得た。

このようにして導入した脂肪酸、アミノ酸、ペプチドの種類は Table 5-1 の通りである。ペプチドとして特に塩基性ペプチドを選んだのは、後で述べるようにアミノ酸導入の結果から考察して塩基性が抗菌力発現に必要であると考えたからである。さらに β -アミノ基の存在が広いスペクトルの抗菌力発現に必要であると考えられたので β -アミノ基が遊離の β -リジンジペプチドも合成した。

Fatty Acid :

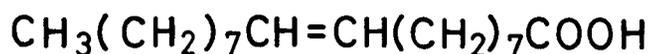
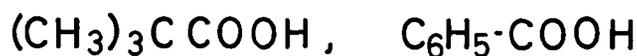
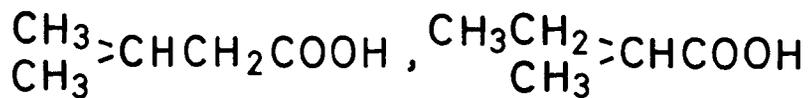
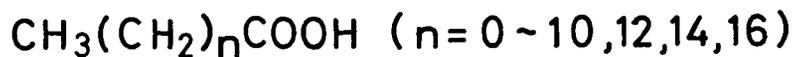


Table 5-1

Amino Acid :

Acidic : Asp , D-Glu

Neutral : Ala , Ser , Gly , Val , Leu , Ile ,
Tyr , Trp , Pro ,

β -Ala , β -Aca* , ϵ -Aca* , Phgly**

Basic : Lys , Orn , α,δ -Dbu , Dpr ,

D-Lys , β -Orn , β,δ -Dbu ,

Arg , His ,

* Aca : Aminocaproic acid

** Phgly: Penylglycine

Peptide :

<u>Lys-Lys</u> ,	<u>Lys</u> — <u>Lys</u> ,		
<u>Orn-Lys</u> ,	<u>Orn</u> — <u>Lys</u> ,	<u>Lys-Orn</u> ,	<u>Lys</u> — <u>Orn</u>
<u>Dpu-Lys</u> ,	<u>Dbu</u> — <u>Lys</u> ,	<u>Lys-Dbu</u> ,	<u>Lys</u> — <u>Dbu</u>
<u>Dpr-Lys</u> ,	<u>Dpr</u> — <u>Lys</u> ,	<u>Lys-Dpr</u> ,	<u>Lys</u> — <u>Dpr</u>

<u>Lys</u> — <u>β-Lys</u>	<u>Ac-β-Lys</u>
<u>Orn</u> — <u>β-Lys</u>	Ac
<u>Dbu</u> — <u>β-Lys</u>	<u>β-Lys</u>
<u>Dpr</u> — <u>β-Lys</u>	Ac
	<u>Ac-β-Lys</u>

— were prepared by the author

Table 5-1(continued)

保護アミノ酸活性エステルの合成は Fig. 5-2 に示すように常法に従って保護したアミノ酸を DCC-HOSu 法により活性エステルとした。

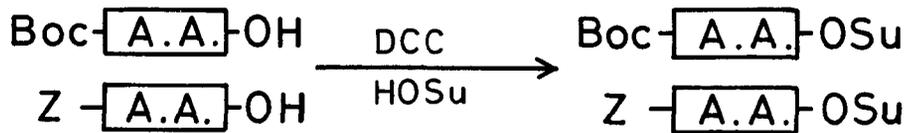


Fig. 5-2

保護 β,ω -ジアミノカルボン酸活性エステルの合成について述べる。本章で行った合成反応には分枝部の選択的に保護された β -Lys 部の導入反応が不可欠でかつ重要であった。一般にこのような β,ω -ジアミノカルボン酸の選択的保護は α,ω -ジアミノ酸に対する手法をそのまま応用することはできない。この点に留意しつ一方では β -Lys の合成法を考慮して Boc- β -Lys-OH の合成のために次のような新しい合成法を考案しそれに成功した。さらに、私は ϵ -Orn-OH または Boc-Orn-OH より出発して混合酸無水物法によるジアゾケトンの合成、続いて Wolff 転位に基づく Arndt-Eistert 法を適用してジアシル- β -リジン合成した。

この原理を応用して、まず Orn 銅塩より選択的に保護した³³⁾ Boc-Orn-OH を合成し、これを出発原料としてクロロギ酸エチルによる混合酸無水物法でジアゾケトンに変化させた後メタノール中安息香酸銀を触媒に用いて Wolff 転位を行い Boc- β -Lys-OMe に導いた。ついでこのものをケトン化した後 DCC-HOSu 法により Boc- β -Lys-OSu に誘導することができた。

また β -Lys の 1-コハク酸イミジルエステルの合成のためには、Wolff 転位の際にテトラヒドロフラン中、1-ヒドロキシコハク酸イミドを共存させることにより直接 1-ヒドロキシコハク酸イミジルエステルへ導くことができた。もちろんこの合成方針は β -Lys 以外の β,ω -ジアミノカルボン酸誘導体の合成にも応用する

ことができ、最近続々見出されるこれらのアミノ酸を含む天然物の合成研究に役立つものと考えられる。実際に Boc-β-Orn-OSu, Boc-β-Lys-OSu (第3章, 第4章), Z-β-Aca-OSu などをもこの方法により、簡便に合成することができた。このことにより β-アミノ酸を含むペプチドの合成は容易になった。

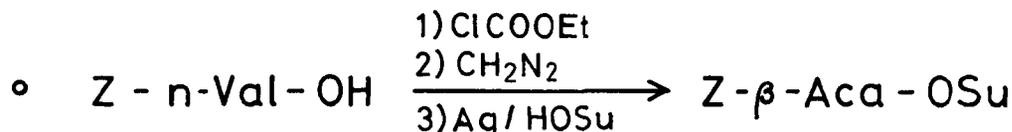
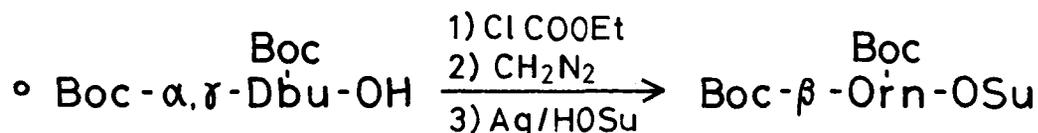
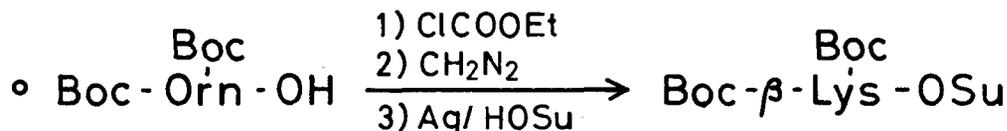
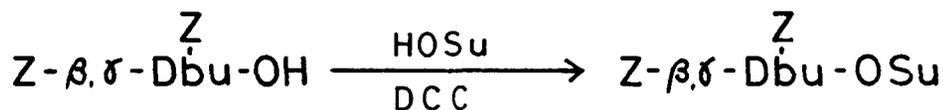
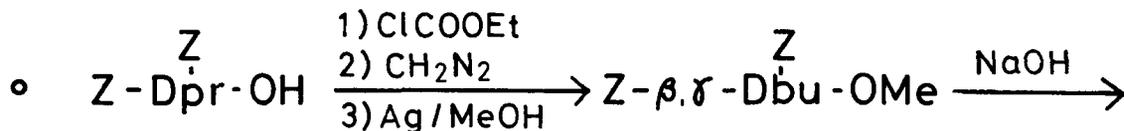
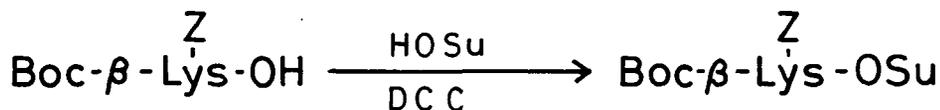
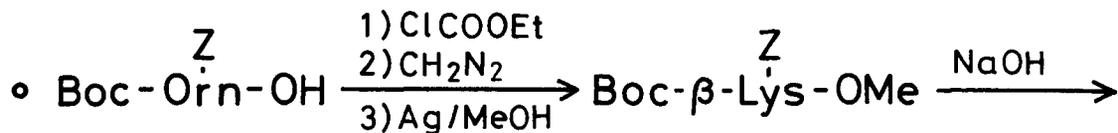


Fig. 5-3

5-2 半合成 Tum 誘導体の抗菌力

5-1 で述べた方法で合成した計65種類の半合成 Tum 誘導体の抗菌力 (Minimum Inhibitory Concentration) の結果をまとめて Table 5-2、5-3、5-4 に示す。以上の結果を脂肪酸、アミノ酸、ペプチド別にそれぞれ考察する。

Test organisms	Minimum Inhibitory Concentration of Semisynthetic								
	CH ₃ (CH ₂) _n CO-								
	n=0	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5	n=6	n=7	n=8
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538p	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	50
<i>Staphylococcus epidermidis</i> sp-a1-1	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	50
<i>Streptococcus pyogenes</i> N.Y.5	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	100	50
<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	12.5
<i>Micrococcus flavus</i> ATCC 10240	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	100	6.3
<i>Corynebacterium diphthiriae</i> P.W.8	>100	>100	>100	>100	>100	>100	100	100	100
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	100	100
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> B	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Salmonella typhosa</i> H 901	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Salmonella paratyphi</i> PA 41-N-22	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Salmonella enteritidis</i> Gaertner	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Shigella flexneri</i> type 3a	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Shigella sonnei</i> E33	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Proteus vulgaris</i> OX 19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Serratia marcescens</i>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM 1095	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Mycobacterium</i> ATCC 607	>100	>100	>100	>100	>100	>100	50	100	>100
<i>Staphylococcus aureus</i> MS 27	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> W3630	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> W3630 PS3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> W3630 RGN14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> W3630 RGN238	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter aerogenes</i> 0655	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus rettgeri</i> ACR	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Paenigirosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 5-2

Minimum Inhibitory Concentration of Semisynthetic

Test organisms												
	Asp	D-Glu	Gly	Ala	Ser	Val	Leu	Ile	Tyr	Trp	D-PhGly	Pro
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> sp-a1-1	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Streptococcus pyogenes</i> N.Y.5	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Micrococcus flavus</i> ATCC 10240	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> P.W.8	>100	>100	>100	>100	>100	>100	25	>100	100	25	100	100
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	>100	>100	>100	>100	>100	100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> B	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Salmonella typhosa</i> H 901	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Salmonella paratyphi</i> PA 41-N-22	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Salmonella enteritidis</i> Gaertner	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Shigella flexneri</i> type 3a	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Shigella sonnei</i> E33	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	>100	>100	>100	>100	>100	100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Proteus vulgaris</i> OX 19	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Serratia marcescens</i>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM 1095	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Mycobacterium</i> ATCC 607	>100	>100	50	25	100	25	6.3	25- 12.5	12.5	6.3	25- 12.5	>100
<i>Staphylococcus aureus</i> MS 27	-	>100	>100	-	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> W3630	-	>100	>100	-	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> W3630 PS3	-	>100	>100	-	>100	>100	100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> W3630 RGN14	-	>100	>100	-	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> W3630 RGN238	-	>100	>100	-	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i> 0655	-	>100	>100	-	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Proteus rettgeri</i> ACR	-	>100	>100	-	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100

Table 5-3

Minimum Inhibitory Concentration of Semisynthetic

Test organisms	$\begin{matrix} \text{H} & \text{H} \\ & \\ \text{H}-\text{X}-\text{Lys}-\text{Tua} & \text{N} \end{matrix}$				$\begin{matrix} \text{H} \\ \\ \text{H}-\text{X}-\text{Lys}-\text{Tua} & \text{N} \end{matrix}$			
	Lys	Orn	Dbu	Dpr	Lys	Orn	Dbu	Dpr
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> sp-a1-1	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Streptococcus pyogenes</i> N.Y.5	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Micrococcus flavus</i> ATCC 10240	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> P.W.8	6.3	12.5	25	50	6.3	6.3	25	50
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> B	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Salmonella typhosa</i> H 901	100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Salmonella paratyphi</i> PA 41-N-22	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Salmonella enteritidis</i> Gaertner	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Shigella flexneri</i> type 3a	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Shigella sonnei</i> E33	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Proteus vulgaris</i> OX 19	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Serratia marcescens</i>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM 1095	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Mycobacterium</i> ATCC 607	6.3	12.5	12.5-12.5	6.3-6.3	6.3	12.5-12.5	6.3	25
<i>Staphylococcus aureus</i> MS 27	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> W3630	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> W3630 PS3	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> W3630 RGN14	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> W3630 RGN238	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i> O655	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Proteus rettgeri</i> ACR	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100

Table 5-4

Tuberactinomycins (Peptide)

$\begin{matrix} \text{H} & \text{H} \\ & \\ \text{H-Lys-X-Tua N} \end{matrix}$			$\begin{matrix} \text{H} \\ \\ \text{H-Lys-} \square \\ \\ \text{H-X-Tua N} \end{matrix}$			$\begin{matrix} \text{H} \\ \\ \text{H-X-} \square \\ \\ \text{H-}\beta\text{-Lys-Tua N} \end{matrix}$				Tum N
Orn	Dbu	Dpr	Orn	Dbu	Dpr	Lys	Orn	Dbu	Dpr	
>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	25	>100	>100	>100
>100	>100	>100	>100	>100	>100	100	100	>100	>100	>100
>100	>100	>100	>100	>100	>100	100	100	>100	>100	>100
>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
25	6.3	12.5	12.5	6.3	25	3.1	3.1	6.3	25	6.3
100	12.5	25	>100	>100	100	12.5	50	50	>100	25
>100	>100	50	>100	>100	>100	50	50	100	>100	50
>100	>100	100	>100	>100	>100	50	50	100	>100	50
>100	>100	100	>100	>100	>100	50	100	100	>100	100
>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
>100	>100	>100	>100	>100	>100	100	100	>100	>100	50
>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
>100	>100	100	>100	>100	>100	50	100	100	>100	50
>100	>100	100	>100	>100	>100	50	50	100	>100	50
>100	>100	>100	>100	>100	>100	50	100	100	>100	50
>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
6.3	25	12.5	6.3	12.5	25	6.3	25	25	50	6.3
>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	100
>100	100	100	>100	>100	>100	25	100	50	>100	100
>100	50	25	>100	>100	100	12.5	12.5	25	100	6.3
>100	-	>100	>100	-	>100	-	-	-	-	50
>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	50	100	>100	50
>100	>100	>100	>100	>100	>100	100	100	>100	>100	>100
>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	100	>100	>100	>100

Table 5-4 (continued)

脂肪酸を導入した半合成 Tum 誘導体

脂肪酸を導入した誘導体の抗菌力スペクトルを Table 5-5 に要約した。炭素数の少ない脂肪酸 ($n = 0 \sim 5$, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{COOH}$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COOH}$, $(\text{CH}_3)_3\text{CCOOH}$) では抗菌力はいずれの菌に対しても全く認められなかった。しかし炭素鎖が長くなって、 $n = 6$ に至ってはじめて弱いながらも抗菌力が現われ、 $n = 8$ になるとかなりの抗菌力が出現した。しかもそれは天然の Tum N とは全く異った抗菌力パターンを示した。 $n = 9$ および 16 では抗菌力の減少が見られたが、 $n = 12, 14$ においてもその抗菌力パターンは $n = 8$ の場合と同様で Tum N には抗菌力の認められない球菌に対して抗菌作用を示した。さらに二重結合がはいったウンデシレン酸 ($\text{CH}_2 = \text{CH}(\text{CH}_2)_9\text{COOH}$)、オイレン酸 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH} = \text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$) では不飽和結合ができたことによる抗菌力の増強はみられず、抗菌作用は全く認められなかった。

アミノ酸を導入した半合成 Tum 誘導体

アミノ酸を導入した誘導体の抗菌作用は Table 5-6 に示した通りであって、抗菌作用発現を示すほとんどのものの活性は、*Mycobacterium* ATCC 607 (M) と *Corynebacterium diphtheriae* P.W. 8 (C) のみに集中するという共通のパターンを示した。

酸性アミノ酸は全く抗菌作用を示さず、中性のアミノ酸でも立体的に小さいアミノ酸 (Gly, Ala, Ser, Val) では強い抗菌力は現われなかった。しかし α -アミノ酸残基の側鎖に立体的にかさ高い、疎水性基を持つ Leu, Tyr, Trp などではかなりの抗菌力を示した。

塩基性アミノ酸は一般に中・酸性アミノ酸に比べて、抗菌力は強く

Minimum Inhibitory Concentration of Semisynthetic Tuberactinomycins

Test Organism	CH ₃ (CH ₂) _n CO-Tua N									Tum N
	n=0-5	n=6	n=7	n=8	n=9	n=10	n=12	n=14	n=16	
<i>Mycobact.</i> ATCC 607	*	50	100	*	100	50	50	12.5	100	6.3
<i>S. aureus</i> ATCC 6538p	*	*	*	50	*	*	100	100	*	*
<i>S. epider.</i> sp-a1-1	*	*	*	50	*	*	50	50	*	*
<i>Strep.</i> N.Y.5	*	*	100	50	*	100	50	25	*	*
<i>Sarcina</i> ATCC 9341	*	*	*	12.5	*	*	100	25	*	*
<i>Micro. flavus</i>	*	*	100	6.3	*	100	25	12.5	50	*
<i>Coryn. diph.</i> P.W.8	*	100	100	100	*	50	25	100	100	6.3
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	*	*	100	100	*	*	50	100	*	25
<i>E. coli</i> NIHJ	*	*	*	*	*	*	*	*	*	50
<i>Sal. typhosa</i> H 901	*	*	*	*	*	*	*	*	*	50
<i>K. pneumo.</i> ATCC 10031	*	*	*	*	*	*	100	*	*	25

(CH₃)₂CHCH₂CO, CH₃CH₂CH(CH₃)CO, (CH₃)₃CCO,
CH₂=CH(CH₂)₈CO, CH₃(CH₂)₇CH=CH(CH₂)₇CO

* : >100

Table 5-5

現われた。His、ArgなどはTum Nよりは弱い抗菌作用が現われ、LysのD体はL体に比べてわずかに弱かったが、L、D体共にかなり強い抗菌力を示した。Lys、Orn、Dbu、Dprの順序にメチレン鎖が短くなるにしたがって抗菌力は一段階づつ減弱した。ここで注目すべき点は、β-OrnではTum Nとほぼ同じ強度でしかも同じパターン抗菌カスペクトルを示したことである。しかしそれよりメチレン鎖が1箇短いβ,γ-DbuではMとCにわずかに抗菌力が残るのみで、その抗菌作用は急激に減少する傾向が認められた。Table 5-5の中でTum Nと同様の広い抗菌カスペクトルを示したのはβ-Ornだけである。

Minimum Inhibitory Concentration
of Semisynthetic Tuberactinomycins

	M	C		M	C
Gly	50	100<	His	25	50
Ala	25	100	Arg	25	100
Ser	100	100<	Lys	6.3	12.5
Val	25	100<	D-Lys	12.5	50
Leu	6.3	25	Orn	25	50
Ile	25	100<	Dbu	50	50
Tyr	12.5	100	Dpr	100	100
Trp	6.3	25	β -Orn**	12.5	12.5
D-Phgly	25	100	β -Dbu	50	100
Pro	100<	100	β -Ala	100<	100<
Asp	100<	100<	β -Aca*	100	100
D-Glu	100<	100<	ϵ -Aca	100<	100<
			Tum N	6.3	6.3

M : *Mycobacterium* ATCC 607

C : *Corynebacterium diph.* P.W.8

* : DL

** : similar to antimicrobial
spectrum of Tum N

Table 5-6

ペプチドを導入した半合成 Tum 誘導体

Tum N にアミノ酸を導入した場合の結果をまとめて考察してみても、アミノ基の数を多くすることによる塩基性の増大、ならびに遊離の β -アミノ基の存在が抗菌力発現にかなり影響があると考えたので、これを参考として、ペプチド導入に際しては Table 5-1 に示したような塩基性ジペプチドの導入を行った。その結果は Table 5-7 に要約したとうりです。*以外のものは、M、C 以外の菌に対してはほとんど抗菌作用が現われなかった。一般に Lys を含むものが活性が高く、それより炭素鎖が短くなるにつれて抗菌力は弱くなった。

β -アミノ基が遊離のものについては Table 5-7 の*の化合物において Tum N と同様の広い抗菌カスペクトルが現われ、 $\text{Dpr-}\beta\text{-Lys}$ 以外のすべてのものに広い抗菌作用が現われた。さらに $\text{Lys-}\beta\text{-Lys}$ ^{Orn} では C に対して Tum N より一級階高い抗菌力を示した。脂肪酸以外で Tum N より高い抗菌作用を示したのはこの二種だけである。

Minimum Inhibitory Concentration of
Semisynthetic Tuberactinomycins (R-Tua N)

R	M	C	R	M	C
Lys-Lys	6.3	6.3	Lys — $\overline{\text{Lys}}$	6.3	6.3
Orn-Lys	12.5	12.5	Orn — $\overline{\text{Lys}}$	12.5	6.3
Dbu-Lys	12.5	12.5	Dbu — $\overline{\text{Lys}}$	12.5	6.3
Dpr-Lys	12.5	50	Dpr — $\overline{\text{Lys}}$	25	50
Lys-Orn	6.3	25	Lys — $\overline{\text{Orn}}$	6.3	12.5
Lys-Dbu	25	6.3	Lys — $\overline{\text{Dbu}}$	12.5	6.3
Lys-Dpr*	12.5	12.5	Lys — $\overline{\text{Dpr}}$	25	25
Tum N	6.3	6.3	Lys $\overline{\beta\text{-Lys}}$ *	6.3	3.1
			Orn $\overline{\beta\text{-Lys}}$ *	25	3.1
			Dbu $\overline{\beta\text{-Lys}}$ *	25	6.3
			Dpr $\overline{\beta\text{-Lys}}$	50	25

M : *Mycobacterium* ATCC 607

C : *Corynebacterium diphtheriae* P.W.8

* : similar to antimicrobial spectrum of Tum N

Table 5-7

5-3 分枝部分の構造と抗菌力との相関関係

分枝部分の構造と抗菌力との関係を考察するために *Mycobacterium* ATCC 607 に対する抗菌力のみを Table 5-8 に示すようにまとめた。

まず天然の Tum 0 に相当する分枝部分が β -Lys の (5-1) を基本の形として考えることにする。 β -アミノおよび ϵ -アミノ基がアセチル化された (5-2)、(5-3) および β または ϵ -アミノ基が欠除する (5-4)、(5-5) においては抗菌作用が消失している。次に (5-1) より炭素鎖を一つづつ短くなった (5-6)、(5-7) では抗菌力は順次弱まっている。また β -アミノ酸では最小の β -Ala には抗菌力がなかった。

α, ω -ジアミノカルボン酸 (5-8)、(5-9)、(5-10)、(5-11) の系列においても炭素鎖が短くなるにつれて抗菌力はその順序に規則正しく弱まる傾向がみられる。

塩基性アミノ酸以外では、酸性アミノ酸には全く抗菌作用がなく中性アミノ酸の中では立体的にかえ高い疎水基を持つ Trp、Leu、Tyr などでは Tum N と同程度の抗菌力を示す点が注目される。

塩基性ジペプチドを導入した誘導体は前述したように一般に Tum N に匹敵する抗菌力を示した。

以上の結果をまとめると *Mycobacterium* ATCC 607 に対する抗菌力発現には分枝部分に直結するアミノ酸残基の α または β アミノ基の存在とともに、それとは別に一定距離はなれた位置に塩基性基又は立体的に大きい疎水性基の存在が重要であると推論される。 α と β -アミノ基を比較すると β -アミノ基がやや有利であるという印象を受ける。

以上は *Mycobacterium* ATCC 607 に対する抗菌作用についての考察であったが、次に他の菌に対する抗菌スペクトルの発現について考察してみる。1) 合成誘導体中、Tum N と類似した広い抗菌

スペクトルを示したのは β -Orn, Lys-Dpr, H- β -Lys (R=Lys, Orn, Dbu) の5種だけである。これらは全て β -アミノ基が遊離である。

2) β , γ -Dbu (5-7) および H- β -Lys においては β -アミノ基が遊離であるにもかかわらず広い抗菌カスペクトルを発現しなかった。

3) H- β -Lys (5-3) および β -Aca (5-5) においては抗菌作用が全く現われなかった。1), 2), 3) の三点を考え合わせて Tum N と同様の広い抗菌カスペクトル発現のためには, β -アミノ基が遊離で、しかも第二のアミノ基の存在が必要であり、しかもいずれの二つのアミノ基も vicinal 位には結合していないことが必要であると推定される。

ここに合成したもののうち Tum B, Tum N, Tua N, Lys-Tua N, Orn-Tua N, ϵ -Aca-Tua N の ORD, CD 曲線を Fig. 5-4 に示す。これらのうち Tua N を含むに半合成の Lys-Tua N, Orn-Tua N, ϵ -Aca-Tua N などは Tum B, Tum N などの天然物と全く同じパターンの ORD, CD 曲線を示した。このことから環状ペプチド部分はすべて天然物と同様に分子内水素結合により固定されたコンホメーションをとっていることが推定される。一方抗菌作用は ϵ -Aca-Tua N においては全く現れず一定の環状部コンホメーションは抗菌作用発現に対し必要条件ではあっても十分条件ではないことが明らかとなった。

このように環状ペプチド部分がすべて同一であっても分枝部分のわずかな構造変化が抗菌力に鋭敏に反映される事実が明らかになったことはきわめて興味ある事実であると思われる。

Minimum Inhibitory Concentration of
Semisynthetic Tuberactinomycins (R-Tua N)

R	Mycobacterium ATCC 607
(5-1) $\begin{array}{cccc} \text{CH}_2 & \text{CH}_2 & \text{CH}_2 & \text{CH} - \text{CH}_2 \text{CO} \\ & & & \\ \text{NH}_2 & & & \text{NH}_2 \end{array}$	6.3
(5-2) $\begin{array}{cccc} \text{CH}_2 & \text{CH}_2 & \text{CH}_2 & \text{CH} - \text{CH}_2 \text{CO} \\ & & & \\ \text{NH}_2 & & & \text{NH-Ac} \end{array}$	> 100
(5-3) $\begin{array}{cccc} \text{CH}_2 & \text{CH}_2 & \text{CH}_2 & \text{CH} - \text{CH}_2 \text{CO} \\ & & & \\ \text{NH-Ac} & & & \text{NH}_2 \end{array}$	100
(5-4) $\begin{array}{cccc} \text{CH}_2 & \text{CH}_2 & \text{CH}_2 & \text{CH}_2 \text{CH}_2 \text{CO} \\ & & & \\ \text{NH}_2 & & & \end{array}$	> 100
(5-5) $\begin{array}{cccc} \text{CH}_3 & \text{CH}_2 & \text{CH}_2 & \text{CH} - \text{CH}_2 \text{CO} \\ & & & \\ & & & \text{NH}_2 \end{array}$	100
(5-6) $\begin{array}{cccc} \text{CH}_2 & \text{CH}_2 & \text{CH} & - \text{CH}_2 \text{CO} \\ & & \\ \text{NH}_2 & & \text{NH}_2 \end{array}$	12.5
(5-7) $\begin{array}{cccc} & \text{CH}_2 & \text{CH} & - \text{CH}_2 \text{CO} \\ & & \\ & \text{NH}_2 & \text{NH}_2 \end{array}$	50
(5-8) $\begin{array}{cccc} \text{CH}_2 & \text{CH}_2 & \text{CH}_2 & \text{CH} - \text{CO} \\ & & & \\ \text{NH}_2 & & & \text{NH}_2 \end{array}$	6.3 12.5 (D-Lys)
(5-9) $\begin{array}{cccc} \text{CH}_2 & \text{CH}_2 & \text{CH}_2 & \text{CH} - \text{CO} \\ & & & \\ \text{NH}_2 & & & \text{NH}_2 \end{array}$	25
(5-10) $\begin{array}{cccc} & \text{CH}_2 & \text{CH}_2 & \text{CH} - \text{CO} \\ & & & \\ & \text{NH}_2 & & \text{NH}_2 \end{array}$	50
(5-11) $\begin{array}{cccc} & \text{CH}_2 & \text{CH} & - \text{CO} \\ & & \\ & \text{NH}_2 & \text{NH}_2 \end{array}$	100

Table 5-8

R	Mycobacterium ATCC 607
Trp, Leu, Tyr	6.3 - 12.5
Ala, D-Phgly, Val, Ile, Gly, His, Arg,	25 - 50
Ser, Pro, β -Ala D-Glu, Asp	100 - >100
<hr/>	
Dipeptide	3.1 - 25
<hr/>	
β -Orn (<u>5-4</u>) Lys-Dpr X $\xrightarrow{\quad}$ β -Lys (X : Lys, Orn, Dbu)	similar to antimicrobial spectrum of Tum N

Table 5-8 (continued)

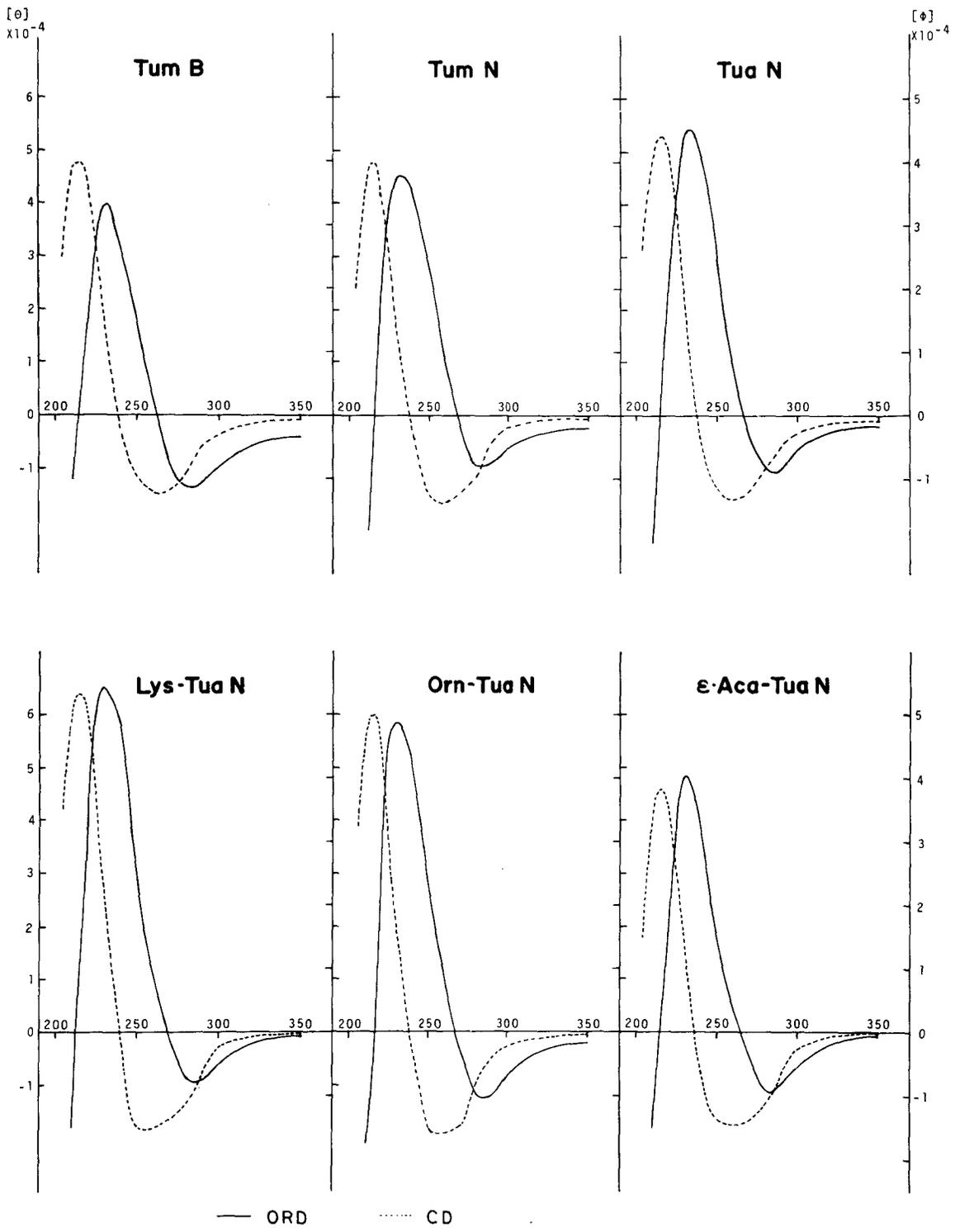


Fig. 5-4

第6章 実験の部

融点はすべて補正していない。NMRスペクトルは Varian T60 (60 MHz) spectrometer を5びに Varian XL-100-15 (Varian VFT-100 (620/L) computer 付き) spectrometer を使い、水溶液の場合は 2,2-ジメチル-2-シラパンタンスルホン酸ナトリウム (DSS) を、他の溶媒の場合はテトラメチルシラン (TMS) を内部基準にして測定した。紫外吸収スペクトルは Hitachi 124 spectrometer, ORD, CD 曲線は Jasco Model ORD/UV-5 を用いて測定した。比旋光度は Perkin-Elmer 141 Polarimeter を用いた。

濾紙電気泳動は Toyo Roshi Kaisha LTD, Power Supply for Paper Electrophoresis Model No. 3DA8 によりピリジン-酢酸-水 (30:4:966) の緩衝液 (濾紙: Toyo Filter Paper No. 51) を用いて行った。薄層クロマトグラフィは Merck シリカゲル G-Merck シリカゲル GF254 (2:1) 上でアセトン-10% 酢酸アンモニウム-10% アンモニウム水 (10:9:1) およびブタノール-酢酸-水 (4:1:2) を用いて展開した。シリカゲルカラムクロマトグラフィは Merck シリカゲル 60 (0.063~0.200 mm) を用いて行った。メタノールを含む溶媒で溶出する場合はメタノールで洗淨後乾燥し7%の水を加えたものを用いた。

6-1 第2章に関する実験の部

Benzylloxycarbonylalaninyl- β,β -diethoxyamine ethyl ester (Z-Ala-Dea-OEt) (2-11)

Benzylloxycarbonylalanine 6.09g (0.0273モル) を酢酸エチル 50 ml にとかし、氷冷下に攪拌しながら N,N-ジシクロヘキシルカル

ボジイミド 5.62 g (0.0273 mol) と 1-ヒドロキシコハク酸イミド 3.14 g (0.0273 mol) を加えた。次に β - β -diethoxyalanine ethyl ester 5.12 g (0.0249 mol) のクロロホルム 40 ml 中の溶液を加え、氷冷下にて 2 時間以上室温で一晩攪拌した。析出した結晶を口取り口液を濃縮した。得られた油状物を酢酸エチルにとかし、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水で洗い無水硫酸ナトリウムで乾燥した。濃縮すると油状物が得られ、これをシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製した。ベンゼン-酢酸エチルで溶出し油状物が得られた。収量 7.9 g (77.4%)。

Benzylloxycarbonylalanyl- β , β -diethoxyalanine hydrazide

(Z-Ala-Dea-NHNH₂) (2-12)

Benzylloxycarbonylalanyl- β , β -diethoxyalanine ethyl ester (Z-Ala-Dea-OEt) 1.40 g (0.00341 mol) を N,N-ジメチルホルムアミド 20 ml にとかしヒドラジンヒドラート 3.42 g (0.0683 mol) を加え、2 日間室温に放置した。反応溶液を減圧濃縮し、残渣に水を加えると沈澱が析出した。収量 920 mg (68.1%)。これを元素分析用にエタノール-エーテル- n -ヘキサンから再沈澱した。融点、208 ~ 209 °C (分解)。 $[\alpha]_D^{29} -1.2^\circ$ (C 0.99, DMF)。

分析値 : C, 54.21; H, 7.17; N, 14.19%

C₁₉H₂₈O₆N₄ としての

計算値 : C, 54.53; H 7.12; N, 14.13%

Benzylloxycarbonylalanyl- β , β -diethoxyalanine methyl ester (Z-Ala-Dea-Ala-OMe) (2-14)

Benzylloxycarbonylalanyl- β , β -diethoxyalanine hydrazide (Z-Ala-Dea-NHNH₂) 1.80 g (0.00454 mol) を 1 M 塩酸 13.6 ml とジオキサン 32 ml に -5 °C で溶かし、そこへ攪拌しながら亜硝酸ナトリウム 0.384 g (0.00556 mol) を水 12 ml にとかした溶液を加

えた。1分後に alanine 0.720 g (0.00920 mol) と、炭酸カリウム 2.04 g (0.0148 mol) を水 16 ml にとかした溶液を加え、0°C で1時間その後室温で1時間攪拌した。不溶物を口取し、口液を 6M 塩酸で酸性にして酢酸エチルで抽出した。水で洗い無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧濃縮すると固体が得られた。収量 1.59 g (77.3%)
これを酢酸エチル-n-ヘキサンから再沈澱した。収量 1.30 g (63.2%)
これをジオキサン 50 ml にとかし、ジアゾメタンの³⁴⁾エーテル溶液をジアゾメタンの黄色が消えなくなるまで加え、さらに1時間攪拌した。その後少量の酢酸を加え過剰のジアゾメタンを分解し、減圧濃縮すると結晶が得られた。収量 1.32 g (62.1%)
これを元素分析用に酢酸エチル-n-ヘキサンから再結晶した。融点 178~180°C。
[α]_D²⁹ -12.4° (C 1.0, DMF)。

分析値 : C, 56.73; H, 7.18; N, 9.00 %

C₂₂H₃₃O₈N₃ としての

計算値 : C, 56.52; H, 7.12; N, 8.99 %

Benzylloxycarbonylalaninyl-3-ureidodehydroalanine ethyl ester (Z-Ala-Uda-OEt) (2-15)

Benzylloxycarbonylalaninyl-β,β-diethoxyalanine ethyl ester (Z-Ala-Dea-OEt) 2.0 g (0.00488 mol) をアセトン 10 ml にとかし、それに 2M 塩酸 10 ml を加えて 10 分間加熱還流した。反応溶液を酢酸エチルで抽出し、水で洗浄し無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧濃縮すると油状物が得られた。これをジメチルセロソルフ 10 ml にとかし尿素 3.28 g (0.0546 mol) と濃塩酸 2 ml を加え室温で 2 日間放置した。水 5 ml とエーテル 20 ml を加えると結晶が析出した。収量 0.70 g (37.3%)。これを元素分析用にエーテルから再結晶した。融点 180~183°C。[α]_D +22.6° (C 1.0, DMF)。

分析値 : C, 53.15; H, 5.85; N, 14.49 %
 $C_{17}H_{22}O_6N_4 \cdot \frac{1}{3}H_2O$ としたの

計算値 : C, 53.12; H, 5.94; N, 14.58 %

紫外吸収 λ_{max} 265nm [0.1M 塩酸 - EtOH (1:1), ϵ 18,000]; 307nm
[1M NaOH 水溶液 - EtOH (1:1) ϵ 22,000]

NMR δ 8.1 (1H, d $J=13$ Hz) DMSO- d_6

δ 8.1 (1H, s) DMSO- d_6 + D_2O

Benzylloxycarbonylalanyl-3-ureidodehydroalanine methyl ester (Z-Ala-Uda-Ala-OMe) (2-16)

Benzylloxycarbonylalanyl- β,β -diethoxyalanylalanine methyl ester (Z-Ala-Dea-Ala-OMe) 500 mg (1.07 ミリモル) をテトロン 10 ml にとかし、2M 塩酸 6 ml を加えて 8 分間還流下に加熱した。次に反応溶液を減圧濃縮し、水、酢酸エチルを加え、二層を分離しその後水層を酢酸エチルで抽出した。水洗した後、減圧濃縮し得られた油状物をジメチルセロソルフ 10 ml にとかし尿素 1.00 g (16.7 ミリモル)、8M 塩酸 1.5 ml を加えて室温で 2 日放置した。減圧濃縮した後、水、酢酸エチルを加え二層を分離し水層を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を合わせて水で洗淨した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し減圧濃縮すると油状物が得られた。これをシリカゲルカラムにより精製した。クロロホルム-メタノールで溶出してゲル状の固体として得た。収量 61 mg (13.1%)。元素分析用にメタノール-エーテルから再沈澱した。融点 116 ~ 117°C。
[α] $_D^{29}$ -61.4° (c 1.0, DMF)。

分析値 : C, 50.90; H, 5.81; N, 15.33 %

$C_{19}H_{25}O_7N_5 \cdot \frac{3}{2}H_2O$ としたの

計算値 : C, 50.83; H, 5.95; N, 15.60 %

紫外吸収 λ_{max} 263 nm [0.1M 塩酸 - EtOH (1:1), ϵ 25,200]; 305 nm
[1M NaOH 水溶液 - EtOH (1:1), ϵ 16,700]

NMR δ 7.7 (1H, d, $J=13$ Hz) DMSO- d_6
 δ 7.7 (1H, s) DMSO- $d_6 + D_2O$

6-2 第3章に関する実験の部

Benzylloxycarbonylalanine 1-succinimidyl ester (Z-Ala-OSu) (3-7)

Benzylloxycarbonylalanine 11.15 g (0.050 mol) を酢酸エチル 100 ml にとかした溶液に氷冷下に N, N' -ジシクロヘキシルカルボジイミド 10.30 g (0.050 mol) を加えた。次に 1-ヒドロキシコハク酸イミド 5.75 g (0.050 mol) の 70 ml のクロロホルム溶液を攪拌しながら加えた。氷冷下に約1時間、その後室温で一晩攪拌した。析出した結晶を口取りし、口液を濃縮すると結晶が得られた。これを酢酸エチル- n -ヘキサンから再結晶した。収量 11.4 g (71.2%)。元素分析用にもう一度酢酸エチル- n -ヘキサンから再結晶した。融点 122-123°C。 $[\alpha]_D^{25} -28.6^\circ$ (c 1.0, DMF)。

分析値: C, 56.28; H, 5.09; N, 8.69 %

$C_{15}H_{16}O_6N_2$ としての

計算値: C, 56.25; H, 5.04; N, 8.75 %

Benzylloxycarbonylalananyl- β, β -diethoxyalanine ethyl ester (Z-Ala-Ala-Dea-OEt) (3-8)

Benzylloxycarbonylalananyl- β, β -diethoxyalanine ethyl ester 11.5 g (0.0280 mol) をエタール 200 ml にとかし、酢酸 3.36 g (0.056 mol) を加えて、パラジウム黒を触媒に水素気流中で接触還元を行った。薄層クロマトグラフィーで原料のスポットが消失した時点で還元を中止し触媒を口取した。口液を濃縮し、得られた油状物にベンゼンを加えて数回留去し、その後 n -ヘキサンで洗

い、デシケータで乾燥した。収量 9.14 g (97.1%)。このようにして得た油状物を酢酸エチルにとかして、氷冷下に攪拌しながらトリエチルアミン 3.03 g (0.0300 モル) を加え、次に *benzyloxycarbonyl-alanine 1-succinimidyl ester* 8.96 g (0.0280 モル) を加えて、氷冷下に 1 時間、その後室温で一夜攪拌した。反応溶液を濃縮し得られた結晶をクロロホルムにとかし水、炭酸水素ナトリウム水溶液、水で洗い無水硫酸ナトリウムで乾燥した。濃縮して得られた結晶をクロロホルムを含む酢酸エチルから再結晶した。収量 11.7 g (86.8%)。融点 186~188°C。[α]_D²⁰ -5.6° (c 0.9, DMF)。

分析値 : C, 57.32; H, 7.37; N, 8.94 %

C₂₃H₃₅O₈N₃ としての

計算値 : C, 57.37; H, 7.33; N, 8.73 %

N^t-t-Butyloxycarbonyl-N^β-benzyloxycarbonyl-α,β-diaminopropionic acid 1-succinimidyl ester (Boc-Dpr-OSu)
(3-9)

N^β-Benzyloxycarbonyl-α,β-diaminopropionic acid 2.38 g (0.0100 モル) を水 20 ml にけん濁し、トリエチルアミン 2.1 ml (0.015 モル) を加え、そこへ *t*-ブチル 4,6-ジメチルピロリミジール-2-キオールカルボネート 2.64 g (0.011 モル) をジオキサン 6 ml にとかした溶液を加えた。その後室温で 20 時間攪拌した。反応溶液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで洗った後、水層をクエン酸で酸性にして酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を水で洗い、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。濃縮すると油状物が得られた。これをテトラヒドロフラン 30 ml にとかし氷冷下に *N,N*-ジシクロヘキシルカルボジイミド 2.06 g (0.010 モル) を加え、次に 1-ヒドロキシコハク酸イミド 1.15 g (0.010 モル) を加えて氷冷下に 1 時間、ついで室温で一夜攪拌した。析出した結晶を口取り口液を濃縮し得られた油状物に無水ジオキサン-*n*-ヘキサンを加えると結

晶化した。収量 3.71g (85.2%)。これを無水ジオキサン-*n*-ヘキサンから再結晶した。収量 2.77 (63.6%)。融点 90~92 °C, $[\alpha]_D^{29} -30.7$ (C 1.9, DMF)。

分析値 : C, 54.78; H, 5.80; N, 9.68 %

C₂₆H₂₅O₈N₃としての

計算値 : C, 54.17; H, 5.79; N, 9.65 %

N^t-t-Butyloxycarbonyl-N^b-benzyloxycarbonyl- α,β -diamino-propionylalanylalanyl- β,β -diethoxyalanine ethyl ester (Boc-D^zPr-Ala-Ala-Dea-OEt) (3-10)

Benzyloxycarbonylalanylalanyl- β,β -diethoxyalanine ethyl ester (Z-Ala-Ala-Dea-OEt) 1.16g (2.41 ミリモル) をジオキサン 100 ml - エタール 100 ml に溶かし 1M 塩酸 2.8 ml を加え, 10%-パラジウム-炭素 200 mg を触媒にして水素気流中で接触還元を行った。5時間反応した後, 触媒を口取り口液を濃縮した。収量 0.92g (99.2%)。この油状物をクロロホルム 30 ml にとかし, トリエチルアミン 0.283g (0.00280 ミリモル) を氷冷下に加えた。次に N^t-t-butylloxycarbonyl-N^b-benzyloxycarbonyl- α,β -diaminopropionic acid 1-succinimidyl ester (Boc-D^zPr-OSu) 1.05g (0.00240 ミリモル) を 10 ml のジオキサンにとかした溶液を加えて氷冷下に 2時間, その後室温で一晩攪拌した。反応溶液を減圧濃縮し得られた結晶を酢酸エタールにとかして水・炭酸水素ナトリウム水溶液で洗った。その後中性になるまで水で洗い無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧濃縮すると結晶が得られた。収量 1.23g (76.3%)。これを酢酸エタール-ヘキサンから再結晶した。収量 1.00g (62.2%)。融点 191~193 °C。 $[\alpha]_D^{29} -10.2$ (C 2.2, DMF)。

分析値 : C, 55.57; H, 7.44; N, 10.48 %

C₃₁H₄₇O₁₁N₅としての

計算値 : C, 55.76; H, 7.40; N, 10.49 %

N^o-t-Butyloxycarbonyl-N^o-benzyloxycarbonyl- α,β -diamino-propionylalanylalanyl- β,β -diethoxyalanine hydrazide

(Boc-D^{Pr}-Ala-Ala-Dea-NHNH₂) (3-11)

N^o-t-Butyloxycarbonyl-N^o-benzyloxycarbonyl- α,β -diamino-propionylalanylalanyl- β,β -diethoxyalanine ethyl ester

(Boc-D^{Pr}-Ala-Ala-Dea-OEt) 500 mg (0.000750 mol) を N,N-ジメチルホルムアミド 5 ml にとかし, ヒドラジンヒドレート 1.00 g (0.0200 mol) を加えてよくふりませた後, 室温に2日間放置した。反応溶液を減圧濃縮し得られた固体をエタノールから再沈澱した。収量 390 mg (79.6%)。融点 214~216°C (分解)。[α]_D²⁹ -10.1° (C 1.1, DMF)。

分析値 : C, 52.73; H, 7.23; N, 14.90 %

C₂₉H₄₄O₁₀N₇ としての

計算値 : C, 53.28; H, 7.25; N, 15.00 %

N^o-t-Butyloxycarbonyl-N^o-benzyloxycarbonyl- α,β -diamino-propionylalanylalanyl- β,β -diethoxyalanine (Boc-D^{Pr}-Ala-Ala-Dea-OH) (3-12)

N^o-t-Butyloxycarbonyl-N^o-benzyloxycarbonyl- α,β -diamino-propionylalanylalanyl- β,β -diethoxyalanine ethyl ester (Boc-D^{Pr}-Ala-Ala-Dea-OEt) 1.00 g (0.00150 mol) をエタノール 35 ml にけん濁し, 1 M 水酸化ナトリウム水溶液 1.8 ml (0.0018 mol) を加えて室温で攪拌した。薄層クロマトグラフィーで原料のスポットが消失してから反応溶液を濃縮した。得られた油状物を水にとかして酢酸エチルで洗い, その後クエン酸酸性にして酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を水で洗い無水硫酸ナトリウムで乾燥した。濃縮すると固体が得られた。これを酢酸エチル-ルネキサンから再沈澱した。収量 876 mg (91.3%)。融点 115~118°C。[α]_D²⁹ -8.1° (C 1.0, DMF)。

分析値 : C, 53.46 ; H, 7.16 ; N, 10.59 %

$C_{29}H_{45}O_{11}N_5 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ としての

計算値 : C, 53.69 ; H, 7.15 ; N, 10.80 %

N^9 -Nitrocapreomycidine (H-Cpd-^{NO₂}-OH) (3-14)

発煙硝酸 ($d=1.52$) 1.5 ml と 50% 発煙硝酸 1.2 ml を塩-氷浴中で $-15^{\circ}C \sim -10^{\circ}C$ に冷却しながら混合したものに攪拌しながら capreomycidine hydrochloride 740 mg (3.55 ミリモル) を数回に分けて加えた。この混合物に濃硫酸 1 ml を加えて 45 分間攪拌した。反応溶液を氷の中へ注ぎ炭酸水素ナトリウムを加えて pH 7 に調節すると結晶が析出した。収量 540 mg (70.0%) これを水から再結晶した。収量 535 mg (69.3%)。融点 $250^{\circ}C$ (分解)。
[α]_D²⁹ +28.0° (C 1.0, 6M HCl)。

分析値 : C, 32.82 ; H, 5.25 ; N, 32.22 %

$C_6H_{11}O_4N_5$ としての

計算値 : C, 33.18 ; H, 5.11 ; N, 32.25 %

N^9 -Nitrocapreomycidine ethyl ester hydrochloride

(HCl · H-Cpd-^{NO₂}-OEt) (3-15)

N^9 -Nitrocapreomycidine 100 mg (0.000460 モル) をエタノール 10 ml にけん濁し、攪拌しながら塩化水素を通じた。反応溶液を加熱し還流が始まったと塩化水素を通じるのをやめ、その後 1 時間加熱還流した。反応溶液を濃縮して得られた油状物にベンゼンを加えて数回濃縮し、水酸化ナトリウムのデシケータ中で乾燥した。これにエタノールを加えると結晶化した。収量 124 mg (98.7%) これを水-エタノール-エーテルから再結晶した。収量 111 mg (85.7%)。融点 $218 \sim 219^{\circ}C$ (分解)。
[α]_D²⁹ +29.2° (C 1.0, H₂O)。

分析値 : C, 34.10; H, 5.80; N, 24.49; Cl, 12.54 %
C₂₈H₁₆O₄N₅Cl としての

計算値 : C, 34.11; H, 5.73; N, 24.86; Cl, 12.59 %

N^α-t-Butyloxycarbonyl-N^β-benzyloxycarbonyl-α,β-diamino-
propionylalanylalanyl-β,β-diethoxyalanyl-N^γ-nitro
capreomycidine ethyl ester (Boc-D^βPr-Ala-Ala-Dea-C^{NO₂}pd-OEt)
(3-16)

N^γ-Nitrocapreomycidine ethyl ester hydrochloride (HCl·
H·C^{NO₂}pd-OEt) 260 mg (0.92 ミリモル) を N,N-ジメチルホルムアミド
1 ml にとかし氷冷下に攪拌しながらトリエチルアミン 100 mg (
1.0 ミリモル) を加えた。次に N^α-t-butyloxycarbonyl-N^β-benzyloxycarbonyl-
α,β-diaminopropionylalanylalanyl-β,β-diethoxy-
alanine (Boc-D^βPr-Ala-Ala-Dea-OH) 600 mg (0.94 ミリモル) と 1-ヒドロ
キシコハク酸イミド 120 mg (1.0 ミリモル) をテトラヒドロフラン
25 ml にとかして加えた。次いでこの混合物にジシクロヘキシル
カルボジイミド 200 mg (0.98 ミリモル) を加えて氷冷下に 2 時間攪
拌した。さらに室温で一晩攪拌し、反応溶液を減圧濃縮した。残渣
を酢酸エチルにとかし不溶物を口取した。口液を 10% クエン酸水溶
液、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水で洗い乾燥した。減圧
濃縮するとゲル状の固体が得られた。収量 290 mg (35.6%)。
元素分析用にエタノールを含む酢酸エチル-エーテルから再沈澱し
た。融点 206~207°C (分解)。[α]_D¹⁸ -21.4° (c 1.0, DMF)。

分析値 : C, 50.93; H, 6.74; N, 15.82 %

C₃₅H₅₉O₁₄N₁₀ としての

計算値 : C, 51.26; H, 6.74; N, 16.16 %

N^α-t-Butyloxycarbonyl-N^β-benzyloxycarbonyl-α,β-diamino-propionylalanylalanyl-β,β-diethoxyalanyl-N^γ-nitro-capreomycidine (Boc-D^{Pr}-Ala-Ala-Dea-C^{pd}-OH) (3-17)

N^α-t-Butyloxycarbonyl-N^β-benzyloxycarbonyl-α,β-diamino-propionylalanylalanyl-β,β-diethoxyalanyl-N^γ-nitro-capreomycidine ethyl ester (Boc-D^{Pr}-Ala-Ala-Dea-C^{pd}-OEt)

550 mg (0.634 ミリモル) をエタノール 15 ml にけん濁し、1 M 水酸化ナトリウム水溶液を加えて室温で攪拌した。薄層クロマトグラフィで原料のスポットが消失した後、反応溶液を減圧濃縮した。得られた油状物を水にとかし酢酸エチルで洗った後、クエン酸で酸性にして酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を水で洗い無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧濃縮すると固体が得られた。これをエタノール-エーテルから再沈澱した。収量 400 mg (75.2%)。融点 177~180 °C (分解)。[α]_D¹⁶ -15.0 (C 1.0, DMF)。

分析値 : C, 49.36 ; H, 6.58 ; N, 16.17 %

C₃₅H₅₄O₁₄N₁₀ · H₂O としての

計算値 : C, 49.06 ; H, 6.59 ; N, 16.35 %

o-Nitrophenylsulphenylalanine 1-succinimidyl ester
(Nps-Ala-OSu) (3-18)

o-Nitrophenylsulphenylalanine dicyclohexylamine salt 4.23 g (0.010 モル) を 10% クエン酸水溶液と酢酸エチルの混合物に加え、よくふりまぜ完全に固体が溶解してから二層を分離した。水層を酢酸エチルで抽出し酢酸エチル層を合わせて水で洗い、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。濃縮すると結晶が得られた。収量 (93.3%)。これを酢酸エチル 50 ml にとかし氷冷下に N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド 2.06 g (0.0100 モル) を加えた。次に 1-ヒドロキシコハク酸イミド 1.15 g (0.0100 モル) をテトラヒドロフラン 20 ml にとかし加え、氷冷下に 2 時間さらに室温で 2 時間

攪拌した。析出した結晶を口取し、口液を減圧濃縮すると油状物が得られた。n-ヘキサンを加えると結晶化した。収量 3.00 g (88.4%)

これを元素分析用に酢酸エチル-n-ヘキサンから再結晶した。

融点 154~156°C (分解)。 $[\alpha]_D^{28} - 63.3^\circ$ (C 1.0, DMF)。

分析値 : C, 46.12; H, 3.93; N, 12.56; S, 9.20 %

$C_{13}H_{13}O_6N_3S$ としての

計算値 : C, 46.01; H, 3.86; N, 12.38; S, 9.45 %

o-Nitrophenylsulfenylalanylalanyl- β,β -diethoxy-
alanine ethyl ester (Nps-Ala-Ala-Dea-OEt) (3-19)

Benzoyloxycarbonylalanyl- β,β -diethoxyalanine ethyl ester (Z-Ala-Dea-OEt) 1.00 g (2.44 ミリモル) をエタノール 30 ml にとかし酢酸 0.22 ml (3.67 ミリモル) を加え 10%-パラジウム-炭素 100 mg を触媒として加え、水素気流中で接触還元を行った。5時間、水素化を行った後触媒を口取し口液を濃縮すると油状物が得られた。これをクロロホルム 30 ml にとかし *o*-nitrophenyl-

sulfenylalanine 1-succinimidyl ester 0.828 g (2.44 ミリモル) を加え、氷冷下に攪拌しながらトリエチルアミン 0.25 g (2.50 ミリモル) を加えた。氷冷下に1時間、さらに室温で一晩攪拌した。反応溶液を濃縮し、得られた油状物を酢酸エチルにとかして、10%クエン酸水溶液、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水の順に洗淨し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧濃縮すると油状物が得られ、n-ヘキサンを加えると結晶化した。収量 962 mg (78.7%)。これを酢酸エチル-n-ヘキサンより再結晶した。収量 768 mg (62.7%)。融点 128~131°C。 $[\alpha]_D^{28} - 29.3$ (C 1.0, DMF)。

分析値 : C, 50.33; H, 6.49; N, 11.08; S, 6.34 %

$C_{21}H_{32}O_8N_4S$ としての

計算値 : C, 50.39; H, 6.44; N, 11.19; S, 6.41 %

O-Nitrophenylsulfonylalanylalanyl- β,β -diethoxyalanine
(Nps-Ala-Ala-Dea-OH) (3-20)

O-Nitrophenylsulfonylalanylalanyl- β,β -diethoxyalanine ethyl ester (Nps-Ala-Ala-Dea-OEt) 750 mg (1.50 ミリモル) をエタノール 5 ml にけん濁し 1 M 水酸化ナトリウム水溶液を加えて 1.5 時間攪拌した。その後減圧濃縮し得られた油状物を水 30 ml にかし酢酸エチルで洗浄した。水層をクエン酸酸性にし酢酸エチルで抽出した。水で洗い無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧濃縮すると油状物が得られた。これにn-ヘキサンを加えると固化した。収量 699 mg (98.7%)。これを元素分析用に酢酸エチル-n-ヘキサンから再沈澱した。融点 148-149°C (分解)。 $[\alpha]_D^{28} - 32.0^\circ$ (C 1.0, DMF)。

分析値: C, 47.93; H, 5.99; N, 11.51; S, 6.60 %

C₁₉H₂₈O₉N₄S としての

計算値: C, 48.29; H, 5.97; N, 11.86; S, 6.79 %

O-Nitrophenylsulfonyl-N⁹-nitrocapreomycinidine
(Nps-Cpd-OH) (3-21)

N⁹-nitrocapreomycinidine 2.00 g (9.21 ミリモル) を 1 M 水酸化ナトリウム水溶液 10.1 ml とジオキサン 40 ml に溶かした溶液に 1 M 水酸化ナトリウム水溶液 10.1 ml を滴下しながら o-nitrophenylsulfonyl chloride 1.92 g (1.01 ミリモル) を数回に分けて 15 分間に加えた。水 300 ml を加えてクエン酸酸性にした。析出した結晶を口取した。口液を酢酸エチルで抽出し水洗した。無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧濃縮すると結晶が得られ、先に得た結晶と合わせた。収量 2.87 g (84.1%)。これをアセトン-n-ヘキサンから再結晶した。収量 2.55 g (74.7%)。融点 180-181°C (分解)。 $[\alpha]_D^{29} + 31.3^\circ$ (C 2.0, DMF)。

分析値 : C, 38.91; H, 3.94; N, 22.56; S, 8.56 %
C₁₂H₁₄O₆N₆S としての

計算値 : C, 38.92; H, 3.81; N, 22.69; S, 8.66 %

N^α-t-Butyloxycarbonyl-N^β-benzyloxycarbonyl-α,β-
diaminopropionic acid methyl ester (Boc-D^βpr-OMe)
(3-22)

N^β-Benzyloxycarbonyl-α,β-diaminopropionic acid 13.77 g (0.0579 mol) を水 100 ml にけん濁し、トリエチルアミン 12.1 ml (0.0868 mol) を加え、そこに t-ブチル 4,6-ジメチルピリミジル-2-チオールカルボネート 15.30 g をジオキサン 30 ml にとかした溶液を加えた。その後室温で 20 時間攪拌した。反応溶液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 50 ml、水 30 ml を加え酢酸エチルで洗淨した後、水層をクエン酸酸性にして酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を水で洗い、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。濃縮すると油状物が得られた。これを酢酸エチル 100 ml にとかしジアゾメタンのエーテル溶液をジアゾメタンの色が消えなくなるまで加えて 2 時間攪拌した。その後酢酸を加えて過剰のジアゾメタンを分解して減圧濃縮すると油状物が得られた。これに n-ヘキサンを加え塩-氷浴中で冷却すると結晶化した。収量 18.47 g (90.5%) 元素分析用に n-ヘキサンから再結晶した。融点 50-52°C。
[α]_D²⁰ - 8.8° (c 1.0, DMF)。

分析値 : C, 58.02; H, 6.92; N, 7.90 %

C₁₇H₂₄O₆N₂ としての

計算値 : C, 57.94; H, 6.87; N, 7.95 %

N^{α} -t-Butyloxycarbonyl- N^{β} -(o-nitrophenylsulfenyl- N^{γ} -nitrocapreomycidyl)- α,β -diaminopropionic acid methyl ester (Nps-Cpd^{NO₂} Boc-Dpr-OMe) (3-23)

N^{α} -t-Butyloxycarbonyl- N^{β} -benzyloxycarbonyl- α,β -diaminopropionic acid methyl ester (Boc-Dpr³-OMe) 4.75 g (0.0135 モル) を N,N -ジメチルホルムアミド 30 ml にとかし、ハロジウム-黒を触媒にして水素気流中で接触還元を行った。5 時間で反応を終え、触媒を口取した。口液に o-nitrophenylsulfenyl- N^{γ} -capreomycidine 5.00 g (0.0135 モル)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール 2.05 g (0.015 モル) を加えた。均一溶液になったところで氷冷し N,N' -ジシクロヘキシルカルボジイミド 3.10 g (0.015 モル) を加えて氷冷下に 2 時間、さらに室温で一晩攪拌した。減圧濃縮し得られた残渣に酢酸エチルを加え析出した結晶を口取した。口液を 10% クエン酸水溶液、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水で洗浄し無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧濃縮すると結晶が得られた。収量 6.33 g (82.2%)。融点 $155 \sim 160^{\circ}\text{C}$ $[\alpha]_{\text{D}}^{28} + 89.8$ (C 1.0, DMF)。

分析値 : C, 42.71; H, 5.37; N, 18.73; S, 5.47 %
 $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_9\text{N}_8\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$ としての

計算値 : C, 42.85; H, 5.48; N, 19.04; S, 5.45 %

N^{α} -t-Butyloxycarbonyl- N^{β} -(o-nitrophenylsulfenylalanyl-alanyl- β,β -diethoxyalanyl- N^{γ} -nitrocapreomycidyl)- α,β -diaminopropionic acid methyl ester (Nps-Ala-Ala-Dea-Cpd^{NO₂} Boc-Dpr-OMe) (3-25)

N^{α} -t-Butyloxycarbonyl- N^{β} -(o-nitrophenylsulfenyl- N^{γ} -nitrocapreomycidyl)- α,β -diaminopropionic acid

methyl ester (Nps-^{NO₂}Cpd-_{Boc-Dpr}-OMe) 500 mg (0.876 ミリモル) を

×91-11 10 ml にけん濁し、0.2 M 塩化水素-テトラヒドロフラン 4.5 ml (0.90 ミリモル) を加え室温で攪拌した。45 分経過したところで 0.2 M 塩化水素-テトラヒドロフラン 1 ml (0.2 ミリモル) を追加した。1 時間で反応を終えエーテルおよび n-ヘキサンを加えると白色沈澱が生じた。収量 339 mg (85.3%)。これをクロロホルム 25 ml にとかし o-nitrophenylsulfenyl-alanylalanyl-β,β-diethoxyalanine 353 mg (0.747 モル) と 1-ヒドロキシベンズトリアゾール 111 mg (0.822 ミリモル) を加えた。均一溶液になったところで氷冷下に攪拌しながら、トリエチルアミン 76 mg (0.747 ミリモル) を加え、フいで N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド 170 mg (0.822 ミリモル) を加え、氷冷下に 2 時間、さらに室温で一晩攪拌した。反応溶液を減圧濃縮し得られた油状物を酢酸エチルにとかし不溶物を口取した。口液を 10% クエン酸水溶液、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水で洗浄し無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧濃縮するとゲル状の固体が得られた。565 mg (74.0%)。これをジオキサニール-エーテルから再沈澱した。収量 382 mg (50.0%)。融点 203~204°C (分解)。 $[\alpha]_D^{28} - 33.5^\circ$ (c 1.0, DMF)。

分析値 : C, 47.02; H, 6.23; N, 16.77; S, 3.92 %

$C_{34}H_{54}O_{14}N_{11}S \cdot \frac{1}{2} [O]$ としての

計算値 : C, 47.20; H, 6.27; N, 16.82; S, 3.50 %

N^{α} -t-Butyloxycarbonyl- N^{β} -(o-nitrophenylsulfonyl-alanylalanyl- β,β -diethoxyalanyl- N^{γ} -nitrocapreomycidyl)- α,β -diaminopropionic acid (Nps -Ala-Ala-Dea- $\overset{NO_2}{Cpd}$ ₇-Boc-Dpr-OH) (3-26)

N^{α} -t-Butyloxycarbonyl- N^{β} -(o-nitrophenylsulfonylalanyl-alanyl- β,β -diethoxyalanyl- N^{γ} -nitrocapreomycidyl)- α,β -diaminopropionic acid methyl ester
(Nps -Ala-Ala-Dea- $\overset{NO_2}{Cpd}$ ₇-Boc-Dpr-OMe) 900 mg (1.03 ミリモル) をエ

タ 1 - ル 9 ml にけん濁し、1 M 水酸化ナトリウム水溶液 1.13 ml (1.13 ミリモル) を加え 2 時間攪拌した。反応溶液を減圧濃縮し得られた油状物を水 100 ml にとかし酢酸エタールで洗浄した。水層をクエン酸酸性にし酢酸エタールで抽出した。水で洗浄し無水硫酸マグネシウムで乾燥した。濃縮すると油状物が得られエーテルを加えると固化した。収量 810 mg (93.9%)。元素分析用ルジオキサン-エーテルから再沈澱した。融点 173~174°C (分解)。 $[\alpha]_D^{28}$ -32.4° (C 1.0, DMF)。

分析値: C, 46.37; H, 6.34; N, 16.72; S, 3.77 %
C₃₃H₅₁O₁₄N₁₁S · ½ [°] としての
計算値: C, 46.60; H, 6.15; N, 17.08; S, 3.56 %

N^{α} -t-Butyloxycarbonyl- N^{β} -(o-nitrophenylsulfonyl-alanylalanyl- β,β -diethoxyalanyl- N^{γ} -nitrocapreomycidyl)- α,β -diaminopropionic acid 1-succinimidyl ester (Nps -Ala-Ala-Dea- $\overset{NO_2}{Cpd}$ ₇-Boc-Dpr-OSu) (3-27)

N^{α} -t-Butyloxycarbonyl- N^{β} -(o-nitrophenylsulfonyl-alanylalanyl- β,β -diethoxyalanyl- N^{γ} -nitrocapreomycidyl)- α,β -diaminopropionic acid (Nps -Ala-Ala-Dea- $\overset{NO_2}{Cpd}$ ₇-Boc-Dpr-OH)

縮すると油状物が得られた。これを酢酸エチルにとかし水洗した。水層をクロロホルムで抽出し水洗した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。先に得た酢酸エチル層を10%クエン酸水溶液、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水で洗い、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。クロロホルム層と酢酸エチル層を合わせて減圧濃縮し、得られた油状物をシリカゲルカラムにより精製した。クロロホルム-メタノールで溶出するとゲル状の固体が得られた。251 mg (37.8%)。元素分析用にメタノール-エーテルから再沈澱した。融点 250°C 以上。 $[\alpha]_D^{25} - 31.2^\circ$ (C 1.0, DMF)。

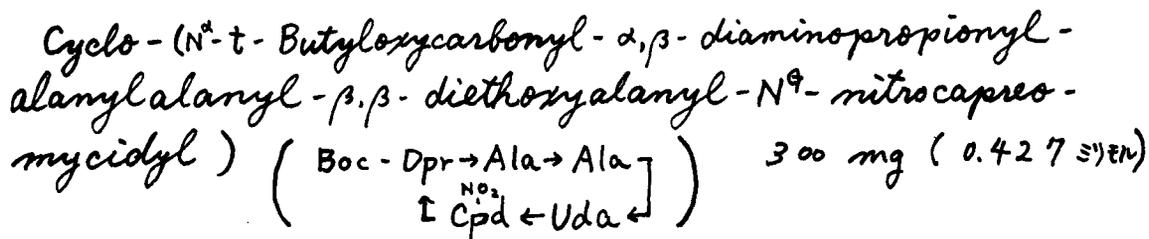
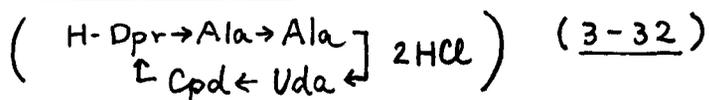
分析値: C, 45.49; H, 6.70; N, 19.67 %

$C_{27}H_{46}O_{11}N_{10} \cdot 1.5 H_2O$ としての

計算値: C, 45.43; H, 6.92; N, 19.63 %

分子量 (蒸気圧浸透法) 743 ($C_{24}H_{46}O_{11}N_{10} \cdot 1.5 H_2O$ としての計算値 714)。

[Ala³, Ala⁴]-Tuberactinamine N dihydrochloride



をエタノール 50 ml, 水 15 ml, 酢酸 0.2 ml にとかし、パラジウム黒を触媒に接触還元を行った。25時間で反応を終え、触媒を口取り口液を減圧濃縮した。得られた油状物をアセトン-1M塩酸(1:1) 10 ml にとかして8分間加熱還流した。室温まで冷却し尿素 600 mg (9.99 mmol) を加えて室温で一晩放置した。この反応溶液を 30°C 以下で減圧濃縮し得られた油状物にエタノール-エーテルを加えると固化した。収量 207 mg (81.3%)。これ

を水-メタノールから再結晶した。収量 126 mg (49.5%)。融点 250°C 以上。 $[\alpha]_D^{28} -23.8^\circ$ (C 1.0, H₂O)。

分析値: C, 38.03; H, 5.97; N, 25.86; Cl 11.68%
C₁₉H₃₃O₆N₁₁Cl₂ · H₂O としての

計算値: C, 38.00; H, 5.87; N, 25.66; Cl, 11.81%

紫外吸収 λ_{max} 268 nm (H₂O, ϵ 25,700); 267 nm (0.1 M HCl, ϵ 25,400); 301 nm (1 M NaOH, ϵ 18,400)

NMR δ 7.76 (1H, d, J = 13 Hz) DMSO-d₆

δ 7.76 (1H, s) DMSO-d₆ + D₂O

δ 8.01 (1H, s) D₂O

Di-t-butylloxycarbonyl- β -lysine 1-succinimidyl ester (Boc- β -Lys^{Bpc}-OSu)

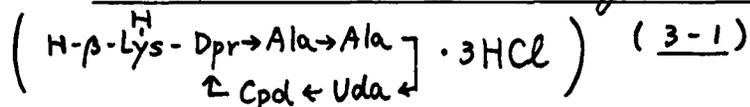
Di-t-butylloxycarbonylornithine (3.32 g (0.0100 mol)) と N-メチルモルホリン 1.01 g (0.0100 mol) を酢酸エチル 50 ml にとかし、塩-氷浴で冷却しながらクロルギ酸エチル 1.08 g (0.0100 mol) を加え、3時間攪拌した。析出した結晶を口取りし、口液を塩-氷浴で冷却しながらジアゾメタン³⁹⁾のエーテル溶液を加えて攪拌した。1時間後に室温にもどし一夜攪拌を続けた。減圧濃縮し得られた油状物をテトラヒドロフラン 20 ml に溶かし、1-ヒドロキシコハク酸イミド 5.75 g (0.0500 mol) を加え攪拌しながら安息香酸銀 100 mg をトリエチルアミン 1 ml にとかして加えた。5時間攪拌し減圧濃縮した。得られた油状物を酢酸エチルに溶かし析出した銀をセライトを用いて口取りし、口液を10%クエン酸水溶液、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水で洗浄し無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧濃縮すると油状物が得られ、n-ヘキサンを加えると結晶化した。収量 2.87 g (64.7%)。元素分析用に酢酸エチル-n-ヘキサンから再結晶した。融点 128-129°C。 $[\alpha]_D^{14} -4.0^\circ$ (C 0.99, DMF)。

分析値 : C, 54.16; H, 7.50; N, 9.48 %

$C_{20}H_{33}O_8N_3$ としての

計算値 : C, 54.26; H, 7.55; N, 9.53 %

[Ala³, Ala⁴]-Tuberactinomycin O trihydrochloride



[Ala³, Ala⁴]-Tua N-dihydrochloride 50 mg (0.858 ミリ
モル) をジメチルホルムアミド 3 ml にけん濁し、di-*t*-butyl-
butyloxycarbonyl- β -lysine 1-succinimidyl ester 46
mg (0.103 ミリモル) を加え、室温で攪拌しながらトリエチルアミ
ン 10.4 mg (0.103 ミリモル) を加えて一夜攪拌を続けた。減圧濃
縮すると油状物が得られ、テトラヒドロフランを加えるとゲル状の
固体となった。これを遠心分離により上澄を除き、水にとかして酢
酸エチルで洗淨した。水層を濃縮し 6M 塩酸 1 ml を加えて室温で
30 分攪拌した。反応溶液にエタノール-エーテルを加えると沈澱
が生じた。収量 58 mg (90.5%)。これをメタノール-エー
テルから再結晶した。収量 40 mg (62.4%)。融点 250°C (分解
)。 $[\alpha]_D^{22} - 25.4^\circ$ (c 0.52, H₂O)。

分析値 : C, 39.26; H, 6.29; N, 23.82; Cl, 13.72 %

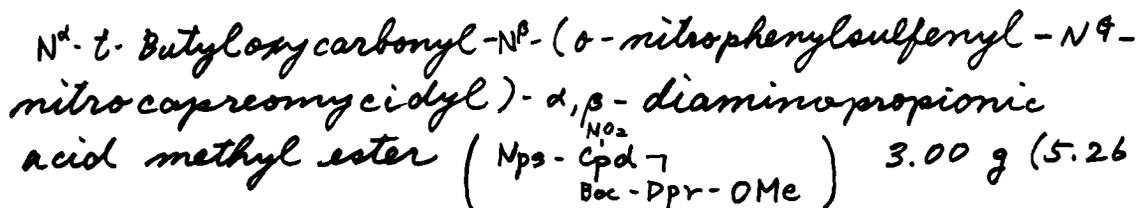
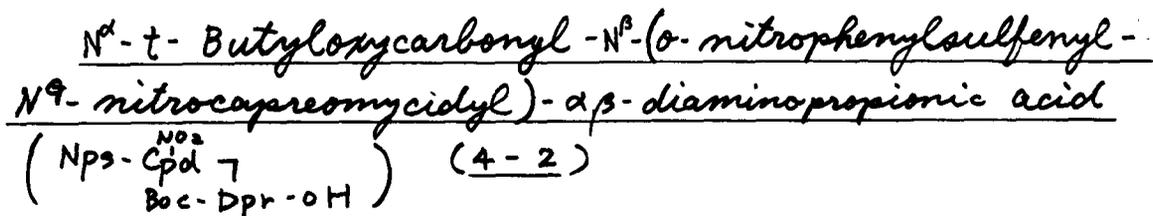
$C_{25}H_{46}O_7N_3Cl_3 \cdot H_2O$ としての

計算値 : C, 39.24; H, 6.32; N, 23.80; Cl, 13.90 %

紫外吸収 λ_{max} 268 nm (H₂O, ϵ 23,400); 267 nm
(0.1M HCl, ϵ 22,500); 295 nm (1M NaOH, ϵ 16,700)

NMR δ 8.01 (1H, s) D₂O

6-3 第4章に関する実験の部



ミリエル) をメタノール 10 ml にけん濁し 1M-水酸化ナトリウムの水溶液 5.78 ml (5.78 ミリエル) を加えて室温で攪拌した。30 分後に反応溶液を減圧濃縮し得られた油状物を水に溶かして、酢酸エチルで抽出した。水洗し無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧濃縮すると油状物が得られ、エーテルを加えると粉末状固体が得られた。収量 2.49 g (85.0%)。

これを元素分析用にジシクロヘキシルアミン塩とした。上で得られた粉末を酢酸エチルにとかし過剰のジシクロヘキシルアミンを加え、エーテルを加えると結晶が析出した。これを口取し、メタノール-エーテルから再結晶した。融点 213 ~ 214 °C (分解)。

$[\alpha]_D^{23} +63.8^{\circ}$ (C 1.0, DMF)。

分析値 : C, 51.57; H, 6.96; N, 16.79; S, 4.40 %

$C_{32}H_{51}O_9N_9S \cdot \frac{1}{2}CH_3OH$ としての

計算値 : C, 51.77; H, 7.09; N, 16.72; S, 4.25 %

Benzylloxycarbonyl-t-O-t-butylseryl- β,β -diethoxy-
alanine ethyl ester (Z-Ser-Dea-OEt) (4-4)

Benzylloxycarbonyl-O-t-butylserine 29.5 g (0.100 mol)
と β,β -diethoxyalanine ethyl ester 20.5 g (0.100 mol) を
酢酸エチル 500 ml に溶かし、1-ヒドロキシベンズトリアゾール
18.9 g (0.140 mol) を加え氷冷下に攪拌しながら N,N'-ジシクロ
ヘキシルカルボジイミド 24.6 g (0.120 mol) を加えて攪拌した。
氷冷下に 2 時間、さらに室温で一晩攪拌を続けた。析出した結晶を
口取り口液を 10% クエン酸水溶液、水、飽和炭酸水素ナトリウム水
溶液、水で洗浄し無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧濃縮する
と油状物が得られた。これをシリカゲルカラムクロマトグラフィー
により精製した。ベンゼン-酢酸エチルで溶出し、油状物を得た。
収量 45.4 g (94.1%)。 $[\alpha]_D^{19} +1.6^\circ$ (C 2.3, DMF)。

分析値： C, 59.26; H, 7.94; N, 5.80 %

$C_{24}H_{32}O_8N_2$ としての

計算値： C, 59.73; H, 7.94; N, 5.81 %

これを結晶性誘導体として確認するために、ヒドラジドへ導いた。
上で得た油状物 1.00 g (2.07 mmol) をジメチルホルムアミド 10
ml に溶かし、ヒドラジンヒドラート 2.08 g (4.14 mmol) を加
え、室温で 20 時間放置した。これを減圧濃縮し水を加えると結晶
が得られた。融点 136~144°。 $[\alpha]_D^{14} +10.3^\circ$ (C 1.0, DMF)。

分析値： C, 56.31; H, 7.93; N, 12.00 %

$C_{22}H_{36}N_4O_7$ としての

計算値： C, 56.39; H, 7.74; N, 11.96 %

Benzylloxycarbonyl-O-t-butylseryl-O-t-butylseryl-
 β,β -diethoxyalanine ethyl ester (Z-Ser^{tBu}-Ser^{tBu}-Dea-OEt)
(4-5)

Benzylloxycarbonyl-O-t-butylseryl- β,β -diethoxy-
alanine ethyl ester (Z-Ser^{tBu}-Dea-OEt) 16.9 g (0.0350
モル) を N,N-ジメチルホルムアミド 60 ml にとかして、ハロジウ
ム黒を触媒とし水素気流中で接触還元を行った。6時間後反応を
終え触媒を口取した。別に Benzylloxycarbonyl-O-t-butylserine
11.4 g (0.0385 モル) とヒドロキシコハク酸イミド 4.87 g (
0.0423 モル) をテトラヒドロフラン 100 ml にとかし氷冷下に
N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド 8.73 g (0.0423 モル) を
加え 5 分間攪拌した。この反応混合物に先に得た口液を滴下し、そ
の後 2 時間室温にもどして一夜攪拌した。析出した結晶を口取し
口液を減圧濃縮した。得られた油状物を酢酸エチルにとかし 10% ク
エン酸水溶液、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水で洗淨し無
水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧濃縮すると油状物が得られた。
シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製した。ベンゼン-
酢酸エチルにより溶出し油状物を得た。収量 20.4 g (93.1%)。
これを元素分析用に再度シリカゲルカラムクロマトグラフィーによ
り精製した。 $[\alpha]_D^{20} + 15.1^\circ$ (C 1.0, DMF)。

分析値 : C, 59.59; H, 8.45; N, 6.41 %

C₃₁H₅₁O₁₀N₃ としての

計算値 : C, 59.50; H, 8.22; N, 6.72 %

さらにこれを結晶性誘導体に導くためにヒドラジドへ変換した。

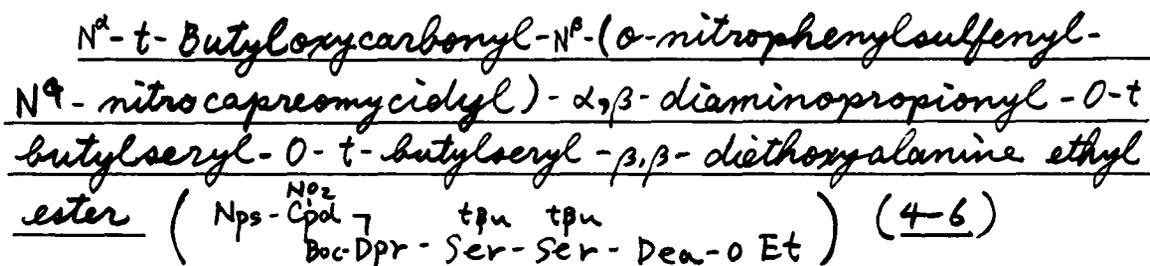
ここで得た油状物(4-5) 100 mg (0.160 ミリモル) を N,N-ジメ
チルホルムアミド 1 ml にとかし、ヒドラジンヒドラート 160 mg
(3.2 ミリモル) を加えて一夜放置した。減圧濃縮し水を加えて口取
した。これをエタノール-水から再結晶した。収量 63 mg (64.4%)。

融点 158~160 °C。 $[\alpha]_D^{23} + 14.2^\circ$ (C 1.0, DMF)

分析値 : C, 56.57; H, 8.08; N, 11.33 %

C₂₉H₄₉O₉N₅ とした

計算値 : C, 56.94; H, 8.07; N, 11.45 %



Benzoyloxycarbonyl-O-t-butylseryl-O-t-butylseryl-β,β-diethoxyalanine ethyl ester ($\overset{\text{tBu}}{\text{Z-Ser}}-\overset{\text{tBu}}{\text{Ser}}-\text{Dea-O Et}$) 561 mg (0.898 ギラム) を N,N-ジメチルホルムアミド 3 ml にとかして、パラジウム黒を触媒にして、水素気流中で接触還元を行った。4時間で反応を終え触媒を口取した。口液に N^α-t-butylloxycarbonyl-N^β-(o-nitrophenylsulfonyl-N^γ-nitrocapreomycidyl)-α,β-diaminopropionic acid ($\text{Nps}-\overset{\text{NO}_2}{\text{Cpd}}-\overset{\text{tBu}}{\text{Boc-Dpr}}-\text{OH}$) 500 mg (0.898 ギラム) と 1-ヒドロキシプロピルアゾール 133 mg (0.988 ギラム) をとかし、氷冷下に MN-ジシクロヘキシルカルボジイミド 204 mg (0.988 ギラム) を加えて氷冷下に 2時間、その後室温で一晩攪拌した。減圧濃縮し得られた油状物を酢酸エチルにとかし析出した結晶を口取した。口液を 10% クエン酸水溶液、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水で洗い、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧濃縮すると油状物が得られる。ル-ヘキサンを加えると固化した。収量 850 mg (91.9%)。これを酢酸エチル-ル-ヘキサンの再沈澱した。収量 730 mg (78.9%)。融点 125~127 °C $[\alpha]_D^{23} + 54.5^\circ$ (C 1.0, DMF)。

分析値 : C, 49.91; H, 7.00; N, 14.65; S, 3.18 %
C₄₃H₇₁O₁₆N₁₁S としての

計算値 : C, 50.13; H, 6.95; N, 14.96; S, 3.11 %

N^α-t-Butyloxycarbonyl-N^β-(o-nitrophenylsulfonyl-N^γ-nitrocapreomycidyl)-α,β-diaminopropionyl-O-t-butylseryl-O-t-butylseryl-β,β-diethoxyalanine

(Nps-C^{No₂}pd[→] ^{tBu} ^{tBu}
Boc-Dpr-Ser-Ser-Dea-OH) (4-7)

N^α-t-Butyloxycarbonyl-N^β-(o-nitrophenylsulfonyl-N^γ-nitrocapreomycidyl)-α,β-diaminopropionyl-O-t-butylseryl-O-t-butylseryl-β,β-diethoxyalanine ethyl ester (Nps-C^{No₂}pd[→] ^{tBu} ^{tBu}
Boc-Dpr-Ser-Ser-Dea-OEt) 1.50 g (1.46 ミリモル) をエタノール 3 ml に溶解し、2 M 水酸化ナトリウム水溶液 0.73 ml (1.46 ミリモル) を加えて 30 分間室温で攪拌した。さらに 2 M 水酸化ナトリウム水溶液 0.36 ml (0.73 ミリモル) を加えてから 1 時間攪拌した。反応溶液に水 100 ml を加え、酢酸エチルで洗浄した。酢酸エチル層を水層に着色しなくなるまで水で抽出し、先の水層と合わせてクエン酸酸性にした。酢酸エチルで抽出し、酢酸エチル層を水で洗い無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧濃縮すると油状物が得られ、m-ヘキサンを加えると固化した。収量 1.27 g (87.2%)。融点 130~132°C (分解)。[α]_D²³ +51.5° (C1.0, DMF)。

分析値 : C, 47.77; H, 6.70; N, 14.87; S, 2.96 %
C₄₁H₆₇O₁₆N₁₁S · 1.5 H₂O としての

計算値 : C, 47.85; H, 6.86; N, 14.97; S, 3.12 %

N^t-t-Butyloxycarbonyl-N^o-(o-nitrophenylsulfenyl-N^q-nitrocapreomycidyl)- α,β -diaminopropionyl-O-t-butylseryl-O-t-butylseryl- β,β -diethoxyalanine 1-succinimidyl ester ($\begin{matrix} \text{Nps-Cpd} \begin{matrix} \text{NO}_2 \\ \uparrow \end{matrix} \\ \text{Boc-Dpr-Ser-Ser-Dea-OSu} \end{matrix} \begin{matrix} \text{tBu} & \text{tBu} \\ \text{Ser} & \text{Ser} \end{matrix} \end{matrix}) \text{ (4-8)}$

N^t-t-Butyloxycarbonyl-N^o-(o-nitrophenylsulfenyl-N^q-nitrocapreomycidyl)- α,β -diaminopropionyl-O-t-butylseryl-O-t-butylseryl- β,β -diethoxyalanine
 ($\begin{matrix} \text{Nps-Cpd} \begin{matrix} \text{NO}_2 \\ \uparrow \end{matrix} \\ \text{Boc-Dpr-Ser-Ser-Dea-OH} \end{matrix} \begin{matrix} \text{tBu} & \text{tBu} \\ \text{Ser} & \text{Ser} \end{matrix} \end{matrix}) \text{ 300 mg (0.299 \text{ \text{mmol}})}$ と

1-ヒドロキシコハク酸イミド 38 mg (0.329 mmol) をテトラヒドロフラン 4 ml にとかし氷冷下に N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド 68 mg (0.329 mmol) を加えて攪拌した。2時間ほどで室温にもどし一夜攪拌した。析出した結晶を口取し、口液を減圧濃縮すると固形物が得られた。これを酢酸エチルにとかし 10% クエン酸水溶液、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水の順に洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧濃縮すると固形物が得られた。収量 314 mg (95.5%)。これを酢酸エチル-エーテルから再沈澱した。収量 234 mg (71.2%)。融点 122~124°C
 $[\alpha]_D^{23} + 45.1^\circ$ (c 1.0, DMF)。

分析値 : C, 48.12; H, 6.37; N, 14.83; S, 2.80%
 C₄₇H₇₀O₁₈N₁₂S · H₂O としての

計算値 : C, 48.38; H, 6.50; N, 15.05; S, 2.87%

Cyclo (N^t-t-butylloxycarbonyl- α,β -diaminopropionyl-O-t-butylseryl-O-t-butylseryl- β,β -diethoxyalanyl-N^q-nitrocapreomycidyl) ($\begin{matrix} \text{Boc-Dpr} \begin{matrix} \text{tBu} & \text{tBu} \\ \text{Ser} & \text{Ser} \end{matrix} \\ \uparrow \text{Cpd} \begin{matrix} \text{NO}_2 \\ \leftarrow \end{matrix} \text{Dea} \end{matrix} \end{matrix}) \text{ (4-9)}$

N^{α} -*t*-Butyloxycarbonyl- N^{β} -(*o*-nitrophenylsulfonyl- N^{γ} -nitrocapreomycidyl)- α,β -diaminopropionyl-*O*-*t*-butylseryl-*O*-*t*-butylseryl- β,β -diethoxyalanine 1-succinimidyl ester (Nps - Cpd - γ tBu tBu Boc -Dpr-Ser-Ser-Dea-OSu)

1.46 g (1.33 ミリモル) をテトラヒドロフラン 15 ml にとかし、2.0 M 塩化水素-テトラヒドロフラン 1.31 ml (2.66 ミリモル) を加え攪拌した。さらに1時間後に 0.65 ml (1.33 ミリモル), 1.5 時間後に 0.65 ml (1.33 ミリモル) をさらに加えた。反応開始後2時間後に減圧濃縮し得られた油状物にエーテルを加えると固化した。収量 1.16 g (89.3%)。これを *N,N*-ジメチルホルムアミド 275 ml にとかし、60°C のピリジン 2000 ml 中へ高度希釈装置によって96時間かけて滴下し、さらに20時間攪拌した。減圧濃縮し得られた油状物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製した。クロロホルム-メタノールで溶出し油状物として得た。これにエーテルを加えると固化した。収量 272 mg (24.6%) 元素分析用にメタノール-エーテルから再沈澱した。融点 250°C 以上。 $[\alpha]_D^{15} -31.5^{\circ}$ (c 1.0, DMF)。

分析値 : C, 49.84; H, 7.47; N, 16.42 %

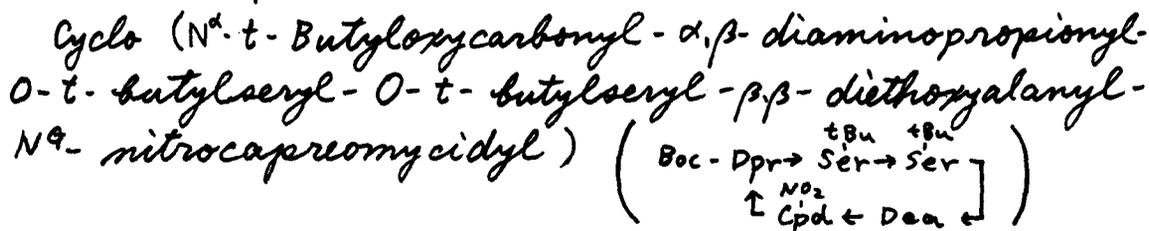
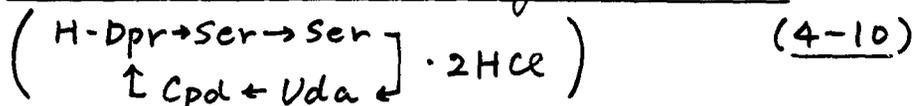
$C_{35}H_{62}O_{13}N_{10} \cdot H_2O$ としての

計算値 : C, 49.52; H, 7.60; N, 16.50 %

分子量 (蒸気圧浸透法) 811 ($C_{35}H_{62}O_{13}N_{10} \cdot H_2O$ としての計算値 849)。

4-8 1.42 g (1.29 ミリモル) を用いて、環化反応を室温 (10~15°C) で行い、他の操作は上と同様に反応を行って 4-9 を得た。収量 275 mg (25.6%)

Tuberactinamine N dihydrochloride



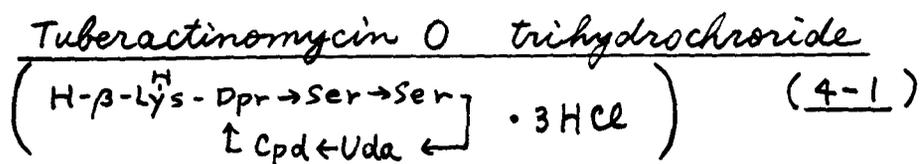
100 mg (0.120 ミリモル) をエタノール 20 ml, 水 3 ml にとかし、酢酸 0.5 ml を加えて、パラジウム黒を触媒に接触還元を行った。18 時間経過したところで反応をやめ、触媒を口取した。口液を減圧濃縮し、残渣に数回ベンゼンを加えて減圧濃縮した。このようにして得た油状物にトリフルオロ酢酸 2 ml を加え 30 分室温で攪拌した。減圧濃縮して得られた油状物をアセトン-2M 塩酸 (1:1) 10 ml にとかし 10 分間加熱還流した。室温にもどして尿素 250 mg を加えて室温で一晩放置した。30°C 以下で減圧濃縮し得られた油状物にエタノール-エーテルを加えると固化した。これを口取し水-エタノールから再結晶した。収量 50 mg (67.8%) これを水-エタノールから再結晶した。収量 42 mg (57.0%) 融点 263~264°C (分解)。[天然物より導いた T_{ua} N: 263~264°C (分解), 混合物 263~264°C (分解)]。[α]₃₆₅¹⁸ -54.0° (C 0.50, H₂O) [天然物より導いた T_{ua} N: [α]₃₆₅¹⁸ -50.8° (C 0.50, H₂O)]。

分析値: C, 36.76; H, 5.52; N, 24.79; Cl, 11.25%

C₁₉H₃₃O₈N₁₁Cl₂ · ½ H₂O としての

計算値: C, 36.60; H, 5.50; N, 24.71; Cl, 11.37%

紫外吸収 λ_{max} 268 (H₂O, ϵ 26,600); 268 (0.1M HCl, ϵ 26,700); 285 (0.1M NaOH, ϵ 17,000) [天然物より導いた T_{ua} N: λ_{max} 268 (H₂O, ϵ 22,000); 268 (0.1M HCl, ϵ 22,000); 286 (0.1M NaOH, ϵ 14,000)]。NMR δ 8.02 (1H, S) D₂O



Tuberactinamine N dihydrochloride 40 mg (0.0651 ミリモル) を N,N-ジメチルホルムアミド 2 ml にけん濁し, di-t-butylloxycarbonyl-β-lysine 1-succinimidyl ester 35 mg (0.078 ミリモル) を加え、攪拌しながらトリエチルアミン 8 mg (0.078 ミリモル) を加え一夜攪拌した。減圧濃縮し得られた油状物にテトラヒドロフランを加えるヒゲル状の沈澱が得られた。これを遠心分離し上澄を除いた。これを 4M 塩酸 0.8 ml にとかし室温で 40 分攪拌した。反応液にエタール-エーテルを加えると白色沈澱が生じた。収量 44 mg (86.7%)。これを元素分析用に水-エタールから再結晶した。融点 240~242°C (分解)。[天然物: 240~242°C (分解), 混合物: 240~242°C (分解)]。[α]_D¹⁶ -16.0° (c 0.53, H₂O) [天然物: [α]_D¹⁶ -16.2° (c 0.51, H₂O)]。

分析値: C, 38.18; H, 6.05; N, 22.84; Cl, 13.55 %
 C₂₅H₄₆O₉N₁₃Cl₃ · ½ H₂O としての

計算値: C, 38.10; H, 6.01; N, 23.11; Cl, 13.50 %
 紫外吸収 λ_{max} 268 nm (H₂O, ε 25,500); 268 (0.1M HCl, ε 26,500); 286 nm (0.1M NaOH, ε 17,400) [天然物: 268.5 (H₂O, ε 23,800); 269 nm (0.1M HCl, ε 24,900); 288 nm (0.1M NaOH, ε 13,200)]。

6-4 第5章に関する実験の部

N^o-t-Butyloxycarbonyl-N^o-benzyloxycarbonyl-β-lysine methyl ester (Boc-β-Lys-OMe)

N^o-t-Butyloxycarbonyl-N^o-benzyloxycarbonyl ornithine 3.66 g (0.0100 モル) を酢酸エチル 30 ml にとかし、塩-氷浴で冷却し、N-メチルモルホリン 1.01 g (0.0100 モル)、ツイエクロルギ酸エチル 1.08 g (0.0100 モル) を加えて 2 時間攪拌した。析出した結晶を口取した。口液を塩-氷浴で冷却下に攪拌しながらジアゾメタンのエーテル溶液を加え 2 時間後に室温にもどして一夜攪拌した。減圧濃縮し得られた油状物をメタノールにとかし安息香酸銀 100 mg を 1 ml のトリエチルアミンに溶かした溶液を加え、室温で 4 時間攪拌した。減圧濃縮し酢酸エチルに溶かし、析出した銀をセライトを用いて口取した。口液を 10% クエン酸水溶液、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水で洗淨し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧濃縮すると油状物が得られ、n-ヘキサンを加えると結晶化した。収量 3.20 g (81.1%)。これを酢酸エチル-n-ヘキサンから再結晶した。収量 2.38 g (60.3%)。融点 69~71°C。

分析値 : C, 60.86; H, 7.74; N, 7.12 %

C₂₀H₃₀O₆N₂ としての

計算値 : C, 60.89; H, 7.67; N, 7.10 %

N^o-t-Butyloxycarbonyl-N^o-benzyloxycarbonyl-β-lysine

(Boc-β-Lys-OH)

N^o-t-Butyloxycarbonyl-N^o-benzyloxycarbonyl-β-lysine methyl ester (Boc-β-Lys-OMe) 960 mg (2.43 ミリモル) をジオキサン 5 ml にとかした溶液に 1M 水酸化ナトリウム水溶液

2.43 ml (2.43 ミリモル) を加えて室温で攪拌した。2.5 時間で反応を終え、減圧濃縮した。得られた油状物を水にとかし酢酸エチルで洗い、水層をクエン酸酸性にした後、酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を水で洗淨し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧濃縮すると油状物が得られ、*n*-ヘキサンを加えると結晶化した。収量 810 mg (87.6%)。これを酢酸エチル-*n*-ヘキサンから再結晶した。収量 740 mg (80.2%)。融点 89~91°C。

分析値 : C, 59.53; H, 7.44; N, 7.27 %

C₁₉H₂₈O₆N₂ としての

計算値 : C, 59.98; H, 7.42; N, 7.36 %

N^β-t-Butyloxycarbonyl-N^ε-benzyloxycarbonyl-β-lysine 1-succinimidyl ester (Boc-β-Lys-OSu)

N^β-t-Butyloxycarbonyl-N^ε-benzyloxycarbonyl-β-lysine (Boc-β-Lys-OH) 1.90 g (5.00 ミリモル) を酢酸エチル 20 ml にとかした溶液に、氷冷下に *N,N'*-ジシクロヘキシルカルボジイミドを加え、ついで 1-ヒドロキシコハク酸イミド 0.69 g (6.00 ミリモル) をジオキサソ 10 ml に溶かした溶液を加えた。氷冷下に 1 時間、さらに室温で一夜攪拌した。析出した結晶を口取りし、口液を減圧濃縮した。得られた油状物を酢酸エチルにとかして 10% クエン酸水溶液、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水で洗淨し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧濃縮すると油状物が得られ、*n*-ヘキサンを加えると結晶化した。収量 2.32 g (97.2%)。これを酢酸エチル-*n*-ヘキサンから再結晶した。収量 1.70 g (71.2%)。融点 101~103°C。

分析値 : C, 57.74; H, 6.56; N, 8.82 %
C₂₁H₃₁O₈N₃ としての

計算値 : C, 57.85; H, 6.54; N, 8.80 %

Dibenzylloxycarbonyl-β,γ-diaminobutyric acid
methyl ester (z-β,γ-dbu-OMe)

Dibenzylloxycarbonyl-α,β-diaminopropionic acid
(z-Dpr-OH) 1.56 g (4.19 ミリモル) を酢酸エチル 20 ml にと
かし塩-氷浴で冷却し、N-メチルモルホリン 466 mg (4.61 ミリモル)、
フイデクロルギ酸エチル 500 mg (4.61 ミリモル) を加えて 1 時間攪
拌した。析出した結晶を口取した。口液を塩-氷浴で冷却下に攪拌
しながらジマゾメタンのエーテル溶液を加え、2 時間後に室温にも
どして一夜攪拌した。減圧濃縮し得られた結晶をメタノール 50 ml
にとかし、安息香酸銀 250 mg をトリエチルアミン 2 ml にとかし
た溶液を加え室温で 4 時間攪拌した。減圧濃縮し残渣を酢酸エチル
にとかし析出した銀を口取した。口液を 1M 塩酸、水で洗い無水硫
酸ナトリウムで乾燥した。減圧濃縮すると結晶が得られた。収量
1.31 g (78.0%)。これを酢酸エチル-n-ヘキサンから再結晶し
た。収量 1.20 g (71.4%)。融点 147~148°C。

分析値 : C, 62.58; H, 5.97; N, 7.11 %
C₂₁H₂₄O₆N₂ としての

計算値 : C, 62.99; H, 6.04; N, 7.00 %

Dibenzylloxycarbonyl-β,γ-diaminobutyric acid
(z-β,γ-dbu-OH)

Dibenzylloxycarbonyl-β,γ-diaminobutyric acid methyl
ester 675 mg (1.69 ミリモル) をジオキサン 5 ml にとかした
溶液に 1M 水酸化ナトリウム水溶液 1.90 ml (1.90 ミリモル) を加

えて、室温で攪拌した。2時間後反応を終え1M塩酸2mlを加えて減圧濃縮した。残渣を酢酸エチルにとかして水で洗淨し無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧濃縮すると結晶が得られ、酢酸エチル-n-ヘキサンから再結晶した。収量600mg(91.9%)。融点143~145°C。

分析値：C, 62.21; H, 5.73; N, 7.72%

C₂₀H₂₂O₆N₂としての

計算値：C, 62.16; H, 5.74; N, 7.25%

Di-benzylloxycarbonyl-β,γ-diaminobutyric acid

1-succinimidyl ester (Z-β,γ-Dbu-OSu)

Di-benzylloxycarbonyl-β,γ-diaminobutyric acid 500mg (1.29ミリモル)をテトラヒドロフラン6mlにとかした溶液に、氷冷下のN,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド266mg(1.29ミリモル)を加え、ついで1-ヒドロキシユハク酸イミド148mg(1.29ミリモル)を加えた。氷冷下に1時間おきに室温で一晩攪拌した。析出した結晶を口取り口液を減圧濃縮した。得られた油状物を酢酸エチルにとかし、不溶物を口取り口液を濃縮すると固化した。これを酢酸エチル-n-ヘキサンより再結晶した。収量595mg(95.0%)。融点80°C。

分析値：C, 59.23; H, 5.26; N, 8.73%

C₂₄H₂₇O₉N₃としての

計算値：C, 59.37; H, 5.66; N, 8.66%

Di-t-butylloxycarbonyl-β-lysine 1-succinimidyl ester (Boc-β-Lys-OSu) の合成についてはP.84で述べた。

Di-t-butylloxycarbonyl- β -ornithine 1-succinimidyl ester (Boc- β -Orn-OSu)

Di-t-butylloxycarbonyl- α, δ -diaminobutyric acid (Boc-D β u-OH) 1.59 g (5.00 ミリモル) を酢酸エチル 25 ml にとかし, N-メチルモルホリン 506 mg (5.00 ミリモル) を加え, 塩-氷浴で冷却下にクロルギ酸エチル 543 mg (5.00 ミリモル) を加える時間攪拌した。析出した結晶を口取し, 口液を塩-氷で冷却しながらジアゾメタンのエーテル溶液を加えて攪拌した。1時間後に室温にもどし一夜攪拌した。減圧濃縮して得られた油状物をテトラヒドロフラン 10 ml にとかした溶液に, 1-ヒドロキシコハク酸イミド 2.30 g (0.0200 モル) を加え, 攪拌しながら安息香酸銀 100 mg をトリエチルアミン 1 ml にとかして加え4時間攪拌した。減圧濃縮し, 得られた油状物を酢酸エチルにとかし析出した銀をセライトを用いて口取した。口液を10% クエン酸水溶液, 水, 飽和炭酸水素ナトリウム, 水で洗い無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧濃縮すると油状物が得られ, n-ヘキサンを加えると結晶化した。収量 1.52 g (70.8%)。これを酢酸エチル-n-ヘキサンから再結晶した。収量 1.26 g (58.6%)。融点 130~132°C

分析値: C, 52.76; H, 7.27; N, 9.65 %

C₁₉H₁₃O₈N₃ としての

計算値: C, 53.13; H, 7.28; N, 9.79 %

Benzylloxycarbonyl- β -aminocaproic acid 1-succinimidyl ester (Z- β -Aca-OSu)

Benzylloxycarbonyl norvaline 1.26 g (5.00 ミリモル) を酢酸エチル 20 ml にとかし, N-メチルモルホリン 506 mg (5.00 ミリモル) を加え, 塩-氷浴で冷却下にクロルギ酸エチル 543 mg (5.00 ミリモル) を加え1時間攪拌した。析出した結晶を口取し, 口

液を塩-水で冷却しながらジブツメタンのエーテル溶液を加えて攪拌した。1時間後に室温にもどし一夜攪拌を続けた。減圧濃縮して得られた油状物をテトラヒドロフラン10 ml とかした溶液に1-ヒドロキシユハク酸イミド 2.30 g (0.0200 モル) を加え、攪拌しながら臭息香酸銀 100 ml をとりエチルアミン 1 ml とかして加え1時間攪拌した。減圧濃縮し、得られた油状物を酢酸エチルにかし析出した銀をセライトを用いて口取した。口液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、10%クエン酸水溶液、水で洗い、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧濃縮すると油状物が得られた。収量 1.65 g (91.2%)。

一般的方法

Lysyl tuberactinamine N trihydrochloride (H-Lys-Tua N · 3HCl)

Tuberactinamine N dihydrochloride 300 mg (0.489 ミリモル) を N,N-ジメチルホルムアミド 10 ml にけん濁し, di-*t*-butyloxycarbonyllysine 1-succinimidyl ester 324 mg (0.732 ミリモル) とトリエチルアミン 51 mg (0.50 ミリモル) を加えて、室温で一晩攪拌した。反応溶液を減圧濃縮しテトラヒドロフランを加えるとゲル状の固体が得られた。これを遠心分離し上澄をのぞいた。薄層クロマトグラフィーにより単一のスポットであることを確かめて次の反応に進んだ。原料の活性エステルが残っている場合には、ここで得られたゲル状の沈澱を水にとかし、酢酸エチルで洗浄し、水層を濃縮した。得られた油状物を 3M 塩酸にとかして室温で 45 分間反応して、エタノールを加えると白色沈澱が生じた。収量 340 mg (89.3%)。これを水-エタノールから再結晶した。収量 307 mg (80.7%)。融点 236~237°C (分解)。

分析値 : C, 38.36; H, 6.13; N, 23.01; Cl, 13.36 %
 $C_{25}H_{46}O_9N_3Cl_3 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ としての

計算値 : C, 38.10; H, 6.01; N, 23.11; Cl, 13.50 %

他のアミノ酸の Tuberactinamine N への導入反応はすべて上の方法に準じて行った。

N^{α} -Lysyl lysyl tuberactinamine N tetrahydrochloride
(H^{α} -Lys-Lys-Tua N · 4HCl)

Tuberactinamine N dihydrochloride 150 mg (0.244 ミリモル) を N,N ジメチルホルムアミド 10 ml にけん濁し、 α -*t*-butyloxycarbonyl- ϵ -benzyloxycarbonyllysine 1-succinimidyl ester (Boc-Lys-OSu) 128 mg (0.269 ミリモル) とトリエチルアミン 25 mg (0.244 ミリモル) を加えて室温で一晩攪拌した。減圧濃縮し得られた油状物にテトラヒドロフランを加えるとゲル状の沈澱が得られた。このものを遠心分離により上澄と分離した。この沈澱を薄層クロマトグラフィーにより、活性エステルが残っている場合には、水にとかして酢酸エチルで洗い水層を減圧濃縮した。このようにして得られたものを 4M 塩酸 3 ml と酢酸 0.5 ml にとかして室温で 1.5 時間反応し、エタール-エーテルを加えると白色沈澱が生じた。収量 199 mg (93.0%)。これを N,N -ジメチルホルムアミド 2 ml にけん濁し、*di-t*-butyloxycarbonyllysine 1-succinimidyl ester 111 mg (0.250 ミリモル) とトリエチルアミン 23 mg (0.23 ミリモル) を加えて室温で一晩攪拌した。減圧濃縮し得られた油状物をテトラヒドロフランを加えるとゲル状の沈澱が得られた。これを遠心分離により上澄と分離した。この沈澱を薄層クロマトグラフィーにより活性エステルが残っていることが認められた場合には生成物を水にとかして、酢酸エチルで洗い水層を減圧濃縮した。このものを 6M 塩酸 1 ml と酢酸 0.5 ml にとかし 1.5 時間攪拌した。次に水を 5 ml 加えて、パラシウム黒を触媒として接触還元した。薄層クロマトグラフィーにより原料のスポットが消失するのを確認して、反応を停止し触媒を口取した。減圧濃縮しエタール-エーテルを加えると白色沈澱が得られた。収量 171 mg (74.1%)。これを水-エタールから再沈澱した。収量 148 mg (64.3%)。融点 242-243°C (分解)。

他の α - γ - δ の導入反応はすべてこの方法に準じて行った。

N^ε-Lysyllysyltuberactinamine N Tetrahydrochloride

(H-Lys^H-Tua N · 4HCl)

Tuberactinamine N dihydrochloride 150 mg (0.244 ミリモル) を N,N-ジメチルホルムアミド 10 ml にけん濁し、*α*-*t*-butyloxycarbonyl- ϵ -benzyloxycarbonyllysine 1-succinimidyl ester (Boc- β -Lys-Osu) 128 mg (0.269 ミリモル) とトリエチルアミン 25 mg (0.244 ミリモル) を加えて室温で一晩攪拌した。減圧濃縮し、得られた油状物にテトラヒドロフランを加えるとゲル状の沈澱が得られた。このものを遠心分離により上澄と分離した。この沈澱を薄層クロマトグラフィ-上で、活活エステルが残っていることが認められた場合には、水に代わって酢酸エチルで洗い水層を濃縮した。このようにして得られたものを乾燥し、N,N-ジメチルホルムアミド 5 ml に代わって、パラジウム黒を触媒にして接触還元を行った。薄層クロマトグラフィ-で原料のスポットが消失したところで反応を停止し触媒を口取した。口液に di-*t*-butyloxycarbonyllysine 1-succinimidyl ester (Boc-Lys-Osu) 108 mg (0.244 ミリモル) を加えて室温で一晩攪拌した。減圧濃縮して得られた油状物にテトラヒドロフランを加えるとゲル状の沈澱が得られた。これを遠心分離により上澄と分離した。この沈澱中に活性エステルの存在が薄層クロマトグラフィ-により認められた場合には、水に代わって酢酸エチルで洗浄し水層を濃縮した。このものを 6M 塩酸 1 ml と酢酸 1 ml に代わって 1.5 時間攪拌した。これにエタール-エーテルを加えると白色沈澱が得られた。収量 190 mg (82.4%)。これを水-エタールから再沈澱した。収量 149 mg (64.8%)。

他の ω -7-アミノの導入反応はこの方法に準じて行った。

以上の様にして合成した半合成ツブラクチノマイロン (R-Tua N) の融点 (分解点)、なすびに Tua N からの収率を示す。

R	mp. °C(dec.)	yield(%)
Asp	245	93.5
D-Glu	246	91.1
Ala	248-249	74.9
Val	253-254	88.2
Leu	>250	87.9
Ile	247-248	86.2
DL-β-Aca	244-245	68.6
ε-Aca	233-234	90.0
Dpr	>250	77.4
Dbu	234-235	79.1
β,γ-Dbu	249	84.8
Orn	241-243	83.3
β-Orn	241-243	83.1
Lys	236-237	80.7
Lys-Lys	242-243	64.3
Orn-Lys	244-246	36.6
Dbu-Lys	240-241	62.2
Dpr-Lys	236-237	52.9
Lys $\overline{\text{Lys}}$	238-240	64.8
Orn $\overline{\text{Lys}}$	234-236	44.5
Dbu $\overline{\text{Lys}}$	232-233	63.9
Dpr $\overline{\text{Lys}}$	233-236	55.7
Lys-Orn	231-234	63.6
Lys-Dbu	232-235	16.8
Lys-Dpr	233-237	23.8

R	mp °C(dec.)	yield(%)
Lys $\overline{\text{Lys}}$	230-234	62.4
Lys $\overline{\text{Dbu}}$	235-237	70.1
Lys $\overline{\text{Dpr}}$	237-240	83.9
Lys $\overline{\beta\text{-Lys}}$	238	45.5
Orn $\overline{\beta\text{-Lys}}$	238	50.1
Dbu $\overline{\beta\text{-Lys}}$	240	48.9
Dpr $\overline{\beta\text{-Lys}}$	240	54.8
Ac- β -Lys	239	44.9
$\overset{\text{Ac}}{\beta\text{-Lys}}$	236	72.4
Ac- $\beta\text{-Lys}$	215	68.4

Abbreviations

Z	benzyloxycarbonyl
Boc	<i>t</i> -butyloxycarbonyl
Pac	phenylacetyl
Nps	<i>o</i> -nitrophenylsulfenyl
For	formyl
Ac	acetyl
Et	ethyl
Me	methyl
<i>t</i> -Bu	<i>t</i> -butyl
HOSu	1-hydroxysuccinimide
HOBt	1-hydroxybenztriazol
DCC	<i>N,N'</i> -dicyclohexylcarbodiimide
TFA	trifluoroacetic acid
DMSO	dimethylsulfoxide
Tua	tuberactinamine
Tum	tuberactinomycin
Dea	β,β -diethoxyalanine
Uda	3-ureidodehydroalanine
Cpd	capreomycidine
Gly	glycine
Ala	alanine
Ser	serine
Dpr	α,β -diaminopropionic acid
Dbu	α,γ -diaminobutyric acid
$\beta\gamma$ -Dbu	β,γ -diaminobutyric acid

Orn	ornithine
β -Orn	β -ornithine (β,δ -diaminovaleric acid)
Lys	lysine
β -Lys	β -lysine (β,ϵ -diaminocaproic acid)
β -Aca	β -aminocaproic acid
ϵ -Aca	ϵ -aminocaproic acid
β -Ala	β -alanine (β -aminopropionic acid)
Leu	leucine
Ile	isoleucine
Val	valine
His	histidine
Arg	arginine
PhGly	phenylglycine
Asp	aspartic acid
Glu	glutamic acid
n-Val	norvaline

References

- 1) A. Nagata, T. Ando, R. Izumi, H. Sakakibara, T. Take, K. Hayano, and J. Abe, *J. Antibiot.*, 21, 681 (1968).
- 2) H. Yoshioka, T. Aoki, H. Goko, K. Nakatsu, T. Noda, H. Sakakibara, T. Take, A. Nagata, J. Abe, T. Wakamiya, T. Shiba, and T. Kaneko, *Tetrahedron Lett.*, 1971, 2043.
- 3) R. Izumi, T. Noda, T. Ando, T. Take, and A. Nagata, *J. Antibiot.*, 25, 201 (1972).
- 4) T. Noda, T. Take, A. Nagata, T. Wakamiya, and T. Shiba, *J. Antibiot.*, 25, 427 (1972).
- 5) B. W. Bycroft, *Chem. Commun.* 1972, 660.
- 6) B. W. Bycroft, D. Cameron, and A. W. Johnson, *J. Chem. Soc. (C)*, 1971, 3040.
- 7) T. Wakamiya, T. Shiba, T. Kaneko, H. Sakakibara, T. Take, and J. Abe, *Tetrahedron Lett.*, 1970, 3497.
- 8) T. Wakamiya, T. Shiba, T. Kaneko, H. Sakakibara, T. Noda, and T. Take, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 46, 949 (1973).
- 9) T. Wakamiya, T. Shiba, and T. Kaneko, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 45, 3668 (1972).
- 10) T. Wakamiya and T. Shiba, *J. Antibiot.*, 27, 900 (1974).
- 11) 日本化学会 第34回春季年会 (1976年4月) において発表予定。
- 12) T. Wakamiya, H. Uratani, T. Teshima, T. Shiba, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 48, 2401 (1975).

- 13) a) H. E. Carter, W. R. Hearn, E. M. Lansford, Jr., A. C. Page, Jr., N. P. Salzman, D. Shapiro, and W. R. Tylor, *J. Amer. Chem. Soc.*, 74, 3704 (1953).
b) E. E. van Tamelen and E. E. Swissman, *J. Amer. Chem. Soc.*, 74, 3713 (1952).
c) E. E. van Tamelen and E. E. Swissman, *J. Amer. Chem. Soc.*, 75, 2031 (1953).
- 14) T. Wakamiya, T. Teshima, I. Kubota, T. Shiba, and T. Kaneko, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 47, 2292 (1974).
- 15) T. Wakamiya and T. Shiba, *J. Antibiot.*, 28, 292 (1975).
- 16) a) H. Naganawa, S. Kondo, K. Maeda, and H. Umezawa, *J. Antibiot.*, 24, 823 (1971).
b) H. Naganawa, M. Yagisawa, S. Kondo, T. Takeuchi, H. Umezawa, *J. Antibiot.*, 24, 913 (1971).
c) M. Yagisawa, H. Naganawa, S. Kondo, T. Takeuchi, H. Umezawa, *J. Antibiot.*, 25, 492 (1972); 25, 495 (1972).
- 17) B. W. Bycroft, D. Cameron, L. R. Croft, A. Hassanali-Walji, A. W. Johnson, and T. Webb, *J. Chem. Soc., Perkin I*, 1972, 827.
- 18) J. C. Collins, *Tetrahedron Lett.*, 1968, 3363.
- 19) K. E. Pfitzner and J. G. Moffatt, *J. Amer. Chem. Soc.*, 87, 5661 (1965); 87, 5670 (1965).
- 20) "The Chemistry of Penicilin", Clarke, Johnson, and Robinson, Editors, Princeton University Press, Princeton, N. J., 1949, p.512.

- 21) Reuben G. Jones, *J. Amer. Chem. Soc.*, 71, 644 (1949).
- 22) Homer Adkins and Burris D. Tiffany, *J. Amer. Chem. Soc.*, 79, 4544 (1957).
- 23) a) R. O. Studer and K. Vogler, *Helv. Chim. Acta*, 45, 819 (1962).
b) R. O. Studer, W. Lergier, and K. Vogler, *Helv. Chim. Acta*, 46, 612 (1963).
- 24) T. Wakamiya and T. Shiba, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 48, 2502 (1975).
- 25) A. Kjaer, *Acta Chem. Scan.*, 3, 1087 (1949).
- 26) J. Leclere and L. Benoiton, *Can. J. Chem.*, 46, 1047 (1968).
- 27) S. Takagi, H. Tsukatani, and K. Hayashi, *Chem. Pharm. Bull.*, 7, 616 (1959).
- 28) T. Nagasawa, K. Kuroiwa, K. Narita, and Y. Isowa, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 46, 1269 (1973).
- 29) K. Hofmann, W. D. Peckham, and A. Rheiner, *J. Amer. Chem. Soc.*, 78, 238 (1956).
- 30) M. Itoh, H. Nojima, J. Notani, D. Hagiwara, and K. Takai, *Tetrahedron Lett.*, 1974, 3089.
- 31) L. Zervas, D. Borovas, and E. Gazis, *J. Amer. Chem. Soc.*, 85, 3660 (1963).
- 32) a) F. M. Callahan, G. W. Anderson, R. Paul, and J. E. Zimmerman, *J. Amer. Chem. Soc.*, 85, 201 (1963).
b) E. Schröder, *Ann. Chem.*, 670, 127 (1963).
- 33) A. Neubergar and F. Sanger, *Biochem. J.*, 37, 515 (1943).

34) *Org. Syntheses Coll. Vol.*, 4, 250 (1963); 4, 943
(1963).

謝 辞

本研究は大阪大学理学部芝研究室に於て行われたものであり、終始暖かい御指導を賜わりました芝 哲夫教授に心から御礼申し上げます。

また実験上の問題などについて常に御指導、御助言をいただき、有意義な討論をしていただきました若宮建昭助手に御礼申し上げます。本研究を行うにあたり御助言をいただき御協力していただきました広津順弘講師、楠本正一助手をはじめとする芝研究室の皆様へ感謝いたします。特に、実際に実験を共に行い、有意義な討論をしていただきました共同実験者の野本信也氏には深く感謝いたします。

本研究のためにツベラクチノマイシンの御提供をいただき、又抗菌力を測定していただき、さらに共同研究をさせていただきました東洋醸造株式会社研究所の皆様へ感謝いたします。結核菌に対する抗菌力を測定していただきました国立療養所・刀根山病院 山崎正保博士、ならびに分子量測定にあたり御便宜をはかっていたいただきました関西学院大学理学部 大川乾次教授、中島喜一郎助手に感謝いたします。また比旋光度の測定にあたり御便宜をはかっていたいただきました大阪大学教養部 乾 利成助教授に御礼申し上げます。

元素分析をしていただきました元素分析室の奥宮正和氏、林 かずよ氏、広部友子氏、ならびにNMRを測定していただきました李 健一氏、土居幹嗣氏、安達清治氏に御礼申し上げます。