



Title	Maridomycin群抗生物質の分離と化学構造
Author(s)	室井, 正之
Citation	大阪大学, 1976, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31434
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文について をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 8 】

氏 名 ・ (本 籍)	室 井 正 之
学 位 の 種 類	薬 学 博 士
学 位 記 番 号	第 3 5 3 1 号
学位授与の日付	昭 和 51 年 3 月 5 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学 位 論 文 題 目	Maridomycin 群抗生物質の分離と化学構造
学 位 審 査 委 員	(主査) 教 授 吉 岡 一 郎
	(副査) 教 授 池 原 森 男 教 授 枡 井 雅 一 郎 教 授 田 村 恭 光

論 文 内 容 の 要 旨

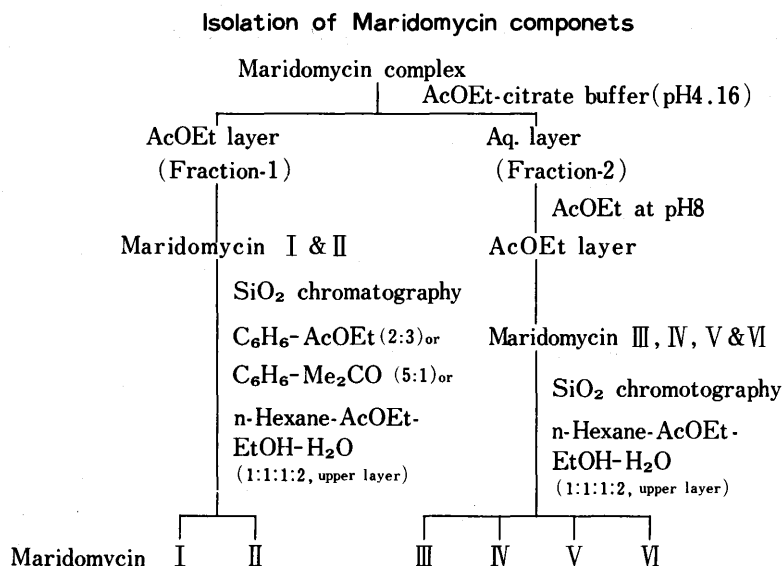
著者は、新規抗生物質の screening の過程で、放線菌、streptomyces hygrosiopicus No. B-5050¹の培養液から、一群の新抗生物質 Maridomycin I ~ VI を分離し、それらの構造を明らかにしたのでここに報告する。

Maridomycin (MDM と略称)、は培養液から、次のような方法で分離された。

Procedure for the purification of Maridomycin
Streptomyces hygrosiopicus

Filtered broth	NO. B-5050
AcOEt at pH 8	
AcOEt layer	
concentration	
H ₂ O (pH 3)	
Aqueous layer	
AcOEt at pH 8	
AcOEt layer	
concentration	
n-Hexane	
Crude material	
crystalization from C ₆ H ₆	
Maridomycin complex (MDM)	
mp 137—141°	
[α] _D ²⁴ —76.4° (EtOH)	
pKa 6.8	

即ち、MDM は、培養液から、弱塩基性で AcOEt などの有機溶媒に抽出され、薄い酸による転溶、分別沈殿を経て、 C_6H_6 から結晶化することにより、無色針状晶として得られた。このようにして得られた Maridomycin (MDM) は、(融点 $137-141^\circ$, $[\alpha]_D^{24}-76.4^\circ$, $pka^*6.8$) 弱塩基性を示し、UV スペクトルでは、末端吸収を示すのみであった。又、その生物活性は、gram 陽性菌、一部の gram 陰性菌、抗酸性菌、Mycoplasma 等に有効で、毒性も極めて弱く、有用な抗生物質と考えられた^{1), 2)} MDM を、TLC, PPC で更に詳細に検討すると R_f の近接したほぼ 6 ケの成分からなることが見出されたので、その分離を試み、図に示すような方法で各成分を分離することができた。

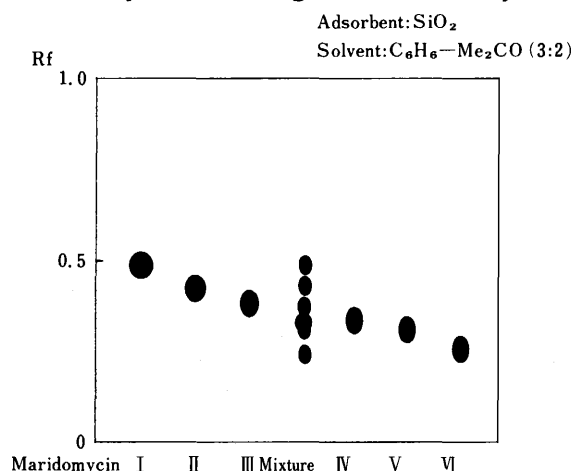


各成分の分配率の差を利用して、大きく 2 群に分画し、各々を SiO_2 のカラムクロマトグラフィーなどに付して、MDM の 6 成分を各々結晶として単離することができた。得られた各成分の物理化学的性質は表に示す通りで、互いに類似の性質を示すが、特に $[\alpha]_D$ pka^* は極めて近い値を示し、又、UV ではいずれも末端吸収を示すのみである。IR (KBr) では、 $1720-1740cm^{-1}$ 及び $1050-1200cm^{-1}$ に強い吸収を示す点で共通しているが、指数領域の吸収は明らかに異なっている。これらの性質から、いずれもこれ迄にない新しい抗生物質と考えられたので³⁾、その構造の解明にとりかかった。

Physicochemical properties of Maridomycins

Maridomycin	I	II	III	IV	V	VI
M.P. (°C, decomp.)	129-132	134-136	135-138	143-146	144-149	149-154
$[\alpha]_D$ (C=1, EtOH)	-72.3°	-71.9°	-76.0°	-76.2°	-73.2°	-77.7°
Mol. w. t.						
Mass M ⁺ (m/e)	857	843	829	815	815	804
V.P.O. (AcOEt)	910	856	830	830	889	864
pka^* (50% EtOH)	6.7	6.8	7.1	6.9	7.1	7.1

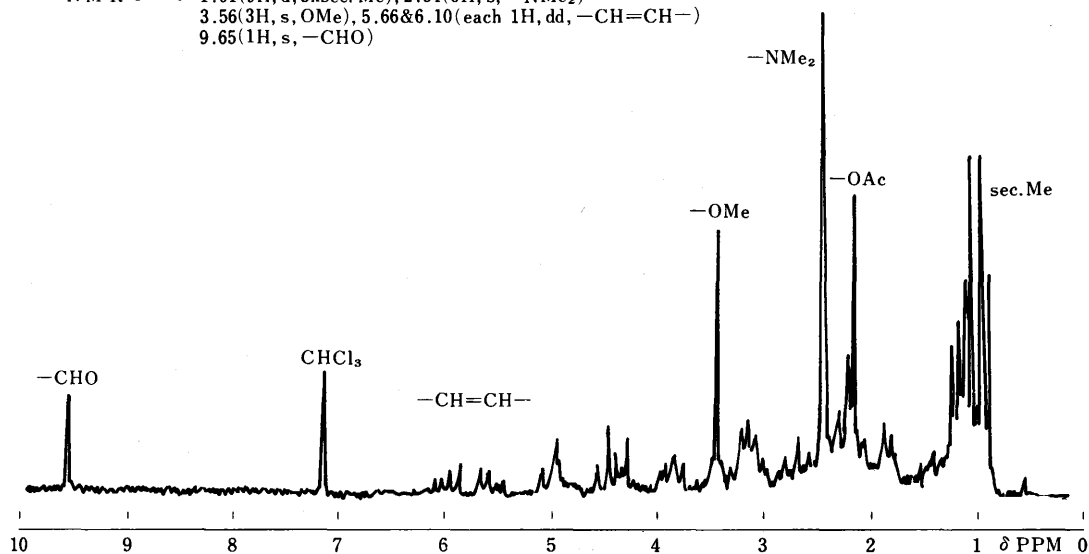
Thin-layer chromatogram of Maridomycin



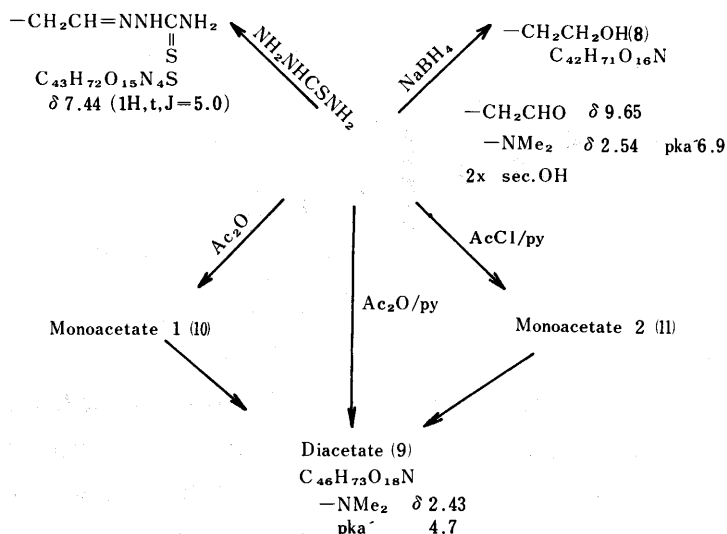
まず、一成分、Maridomycin II (MDM II) について検討した。MDM II は、元素分析値、Mass spectrum (MS) から、分子式 $\text{C}_{42}\text{H}_{69}\text{O}_{16}\text{N}$ が与えられ、又、UVでは、特異的な吸収を示さない。IRでは、 $1730\text{--}1740\text{cm}^{-1}$ に ester, 又は lactone の $\text{C}=\text{O}$ の強い吸収、 $1050\text{--}1200\text{cm}^{-1}$ にも $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ の強い吸収を示す。NMR では、図に示すような官能基の存在が推定された。

Physicochemical Property of Maridomycin II (MDM II)

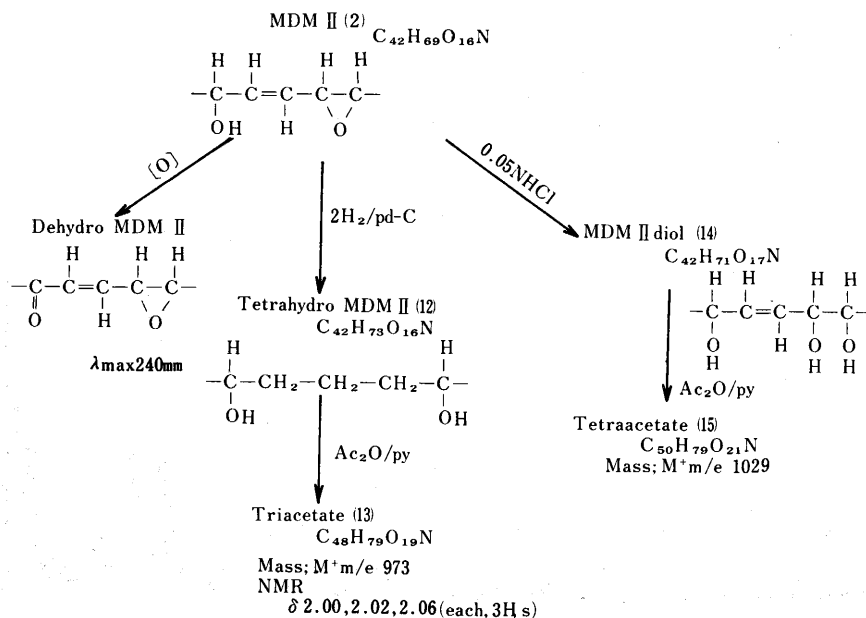
Molecular formula	: $\text{C}_{42}\text{H}_{69}\text{O}_{16}\text{N}$ (MS; M^+ m/e 843)
pKa	: 6.9
UV	: End absorption
IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$	: 2725 ($-\text{CHO}$), 1730-1740 (ester or lactone $\text{C}=\text{O}$) 1050-1200 cm^{-1} ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$)
NMR δ	: 1.01 (9H, d, 3xsec. Me), 2.54 (6H, s, $-\text{NMe}_2$) 3.56 (3H, s, OMe), 5.66 & 6.10 (each 1H, dd, $-\text{CH}=\text{CH}-$) 9.65 (1H, s, $-\text{CHO}$)



これら官能基の存在は、次のような誘導体の合成により確かめられた。



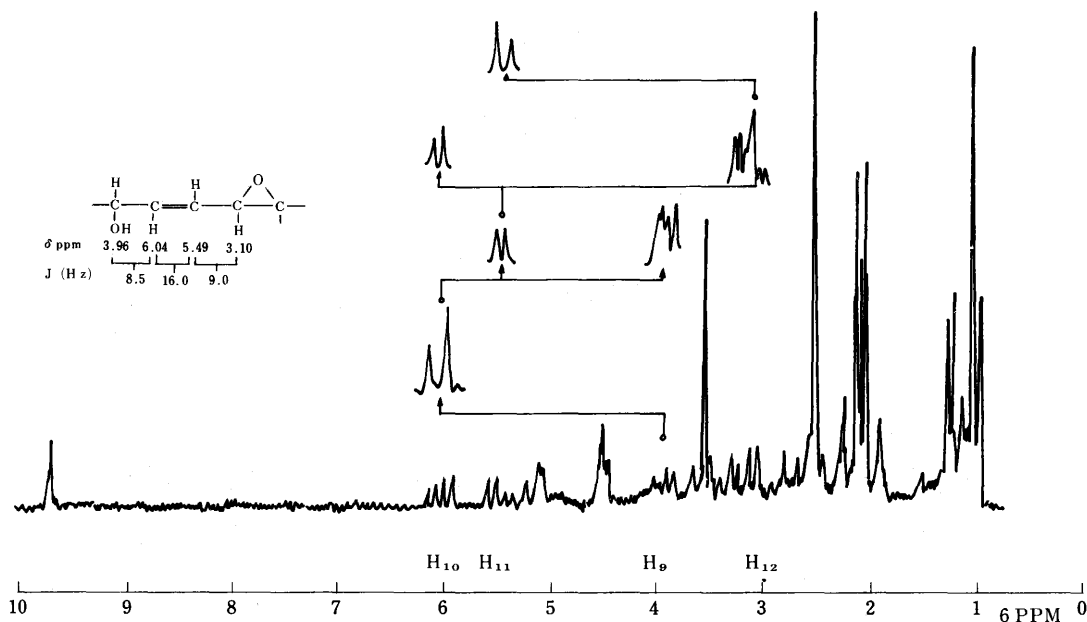
NMR, IR から aldehyde の存在が推定されたので, MDM II を $\text{NH}_2\text{NHC(S)NH}_2$ と反応させると, thio-semicarbazone (7) を与え, NMR で $\delta 7.44$ に —CH=N の signal が, triplet として現われるので —CHO は, CH_2 に隣接しているものと推定される。IR から OH の存在が考えられるので, 常法通り $\text{Ac}_2\text{O/pyridine}$ で acetyl 化すると, diacetate (9) を与え, 二ケの二級水酸基の存在が考えられる。この際, pKa が 4.7 と低下



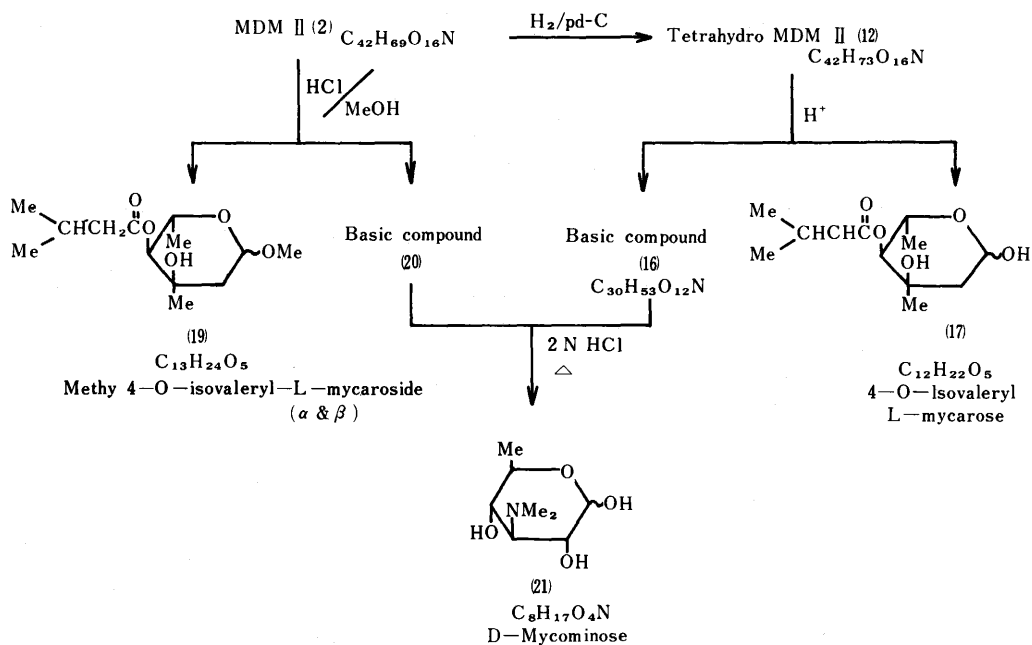
するので、1ケは $-NMe_2$ に隣接すると推定されたので、Pd-C 存在下に接触還元すると tetrahydro 体 (12) が得られ、これを更に acetyl 化すると triacetate (13) を与えることから labile な $C-O-C$ の存在が推定された。

そこで、MDM II を薄い酸で処理すると、極性の強い diol 体 (14) が得られ、これを acetyl 化すると tetracetate (15) を与えることから、MDM II に epoxide の存在が推定される。次に、 MnO_2 又は CrO_3 /pyridine などて緩和に酸化すると 240nm に吸収極大を有する dehydro 体を生成することから、水酸基の一つは allylic と考えられ、従って図のような部分構造の存在が推定された。これを確かめるため、spin-decoupling を行くと下のように decouple されることがわかった。

NMR spectrum of Maridomycin II
(d_6 - Me_2CO)

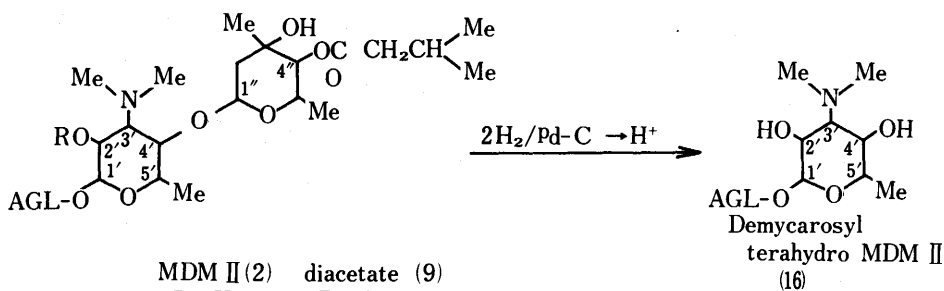


MDM II を 0.5N-HCl で酸加水分解すると、中性糖と複雑な塩基性物質の混合物を与えるので、まず接触還元してから、同様に酸水解すると塩基性物質 (16), $C_{30}H_{53}O_{12}N$ と中性糖 (17), $C_{12}H_{22}O_5$ とが得られた。中性糖 (17) は、NMR, MS, IR, $[\alpha]_D$ などから、L-mycarose⁴⁾ の isovalerylester と推定されたので、MDM II を直接 HCl-MeOH で分解して二種の anomer を得、各々の NMR, IR, MS, $[\alpha]_D$ の比較、及び標品との比較から、Methyl 4-O-isovaleryl-L-mycaroside⁵⁾ と確認された。又、塩基性物質 (16), (20) を 2N-HCl で加熱加水分解すると、塩基性糖 (21) が得られ、その NMR, MS, $[\alpha]_D$ 等が標品のそれと一致することから、D-mycaminose⁶⁾ であることが確認された。



構成糖，L-mycarose と，D-mycaminose は図のように，aglycone と結合していることが明らかになった。

Position of Linkage of Sugar Moiety

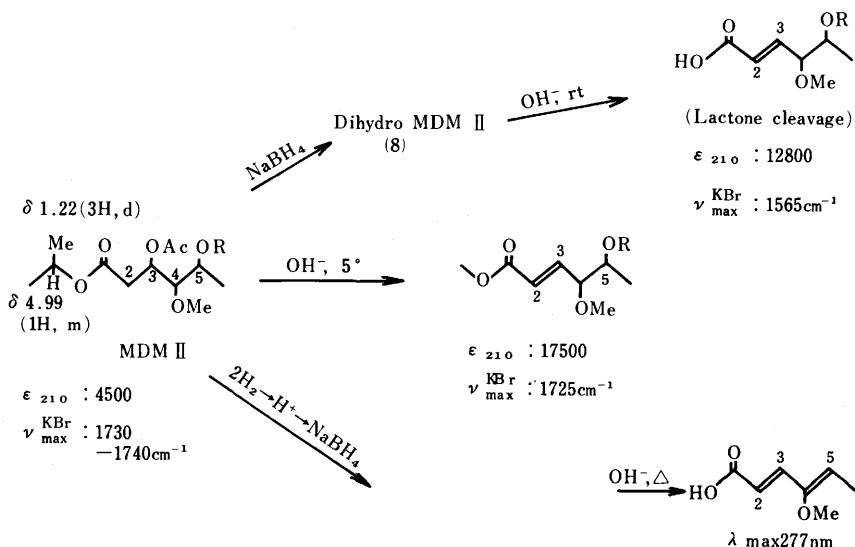


	MDM II (2) R=H	diacetate (9) R=Ac		
H_1'	δ 4.45	δ 4.60	H_1'	δ 4.47
H_2'	δ 3.35	δ 5.0	H_2'	δ 3.50
NMe ₂	δ 2.54	δ 2.45	NMe ₂	δ 2.53
pka ⁻	6.9	4.7	pha ⁻	8.2

MDM II を aceryl 化して得られる diacetate (9) では，pka⁻ が 4.7 と低下することから，-NMe₂ の隣りの水酸基が acetyl 化されたことは明らかで，しかもその際，anomeric proton (H_1') と coupling している H_2' の proton が低磁場シフトすることから，acetyl 化されたのは 2' 位で，又，diacetate の残りの

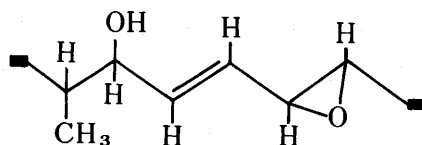
acetylは、monoacetate-2(11)で pK_a が 6.6 と、原体の MDM II と変わらないことから、 $-NMe_2$ と離れた位置、即ち allylic な OH を aceryl 化したものと考えられるから、mycaminse の 4' 位は free ではなく、mycarose と結合しているものと考えられる。mycarose 部分を取り除いた demycarosyl 体(16)で、 pK_a が 8.2 と増大している事実も説明できる。

残る aglycone 部分は、MDM II の分子式から sugar 部分を差引いた残りの $C_{22}H_{33}O_8$ からなり、その部分構造については、アルカリ分解で次のような事実が明らかになった。

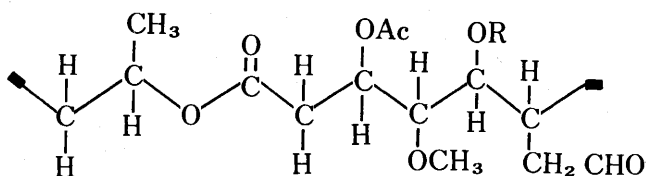


MDM II を NaBH₄ で還元後、室温でアルカリ水解すると、210nm に強い吸収を示す α, β -不飽和カルボン酸 (lactone 開環体) が得られる。一方、MDM II を低温で緩和にアルカリ処理に付すと、 α, β -不飽和 lactone が得られ、この際-OAc を失うと共に、新たに生成した olefine の β 位の proton が、 δ 3.8 のメチンプロトンと coupling していることから、残る酸素数から考えて、4 位は-OMe と推定される。更に、MDM II を接触還元し、酸水解後、NaBH₄ で還元して得られる hexahydro 体(23)を、アルカリで加熱加水分解すると、塩基性部分の消失した $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ -不飽和カルボン酸を生成することから、5 位に mycaminose が結合していたものと考えられる。この部分構造は、spin-decoupling によっても確かめられたが、更に、 δ 4.99 のメチンプロトンは、 δ 1.22 の doublet Me を irradiate すると、d.d. となることから、 $-CH_2-$ に隣接し、一方、5 位の O の根元のメチンプロトンは dd なので、6 位は、 $-CH-$ と推定される。又、 δ 1.6 の二級 Me の根元のメチンプロトンは aglycone の OH の根元のメチンプロトンと coupling していることが見出されたことを考慮に入れると、aglycone 部分に次のような部分構造が推定される。

Partial Structure of Aglycone Portion of Maridomycin II



(A)



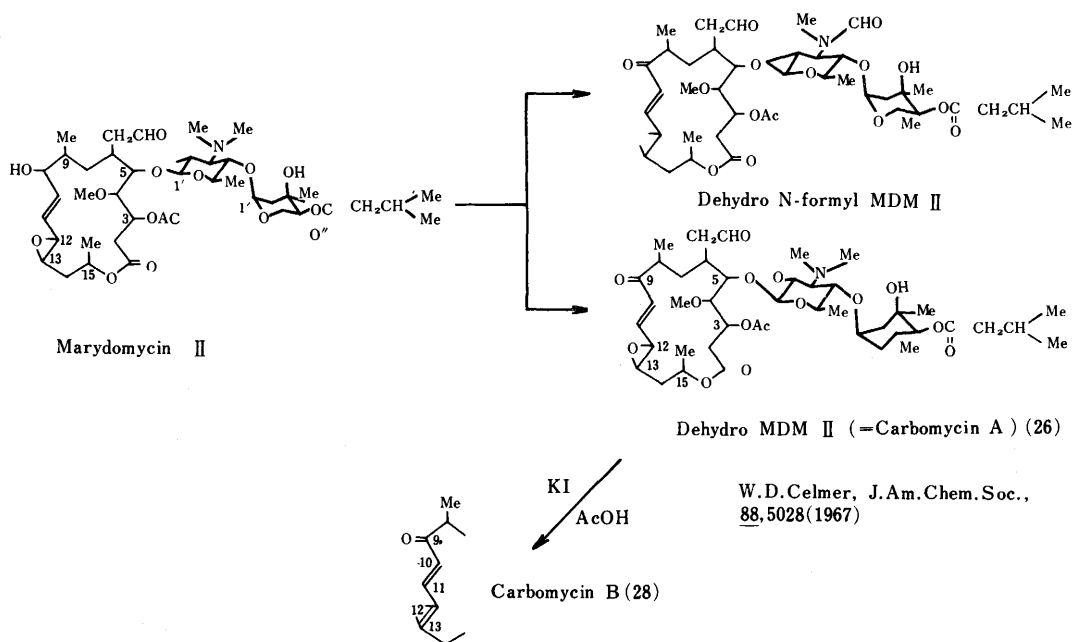
(B)

R; Mycaminose



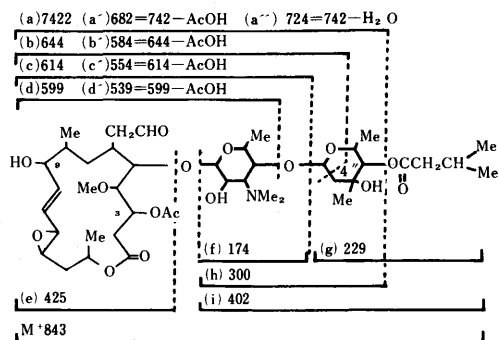
(C)

aglycone $C_{22}H_{33}O_8$ から、部分構造 (A), (B) を差引いて残るのは、 $-CH_2-$ 1 ケ (C) だけとなる。次にこれらの組合わせについては、aglycone の分子式から不飽和度は 6 で、上の部分構造から計算される不飽和度は 5 であるから、残るは 1 となり、部分構造 (A), (B), (C) からなる monocyclic な構造、即ち、大環状 lactone と推定される。このように、大環状 lactone の 5 位に isoveleryl mycanooyl mycaminose の結合した構造を有する。所謂、macrolide 系抗生物質として Carbomycin A⁷⁾ が知られているので、これと比較の為、MDM II を CrO_3 /pyridine で緩和に酸化したところ、主として二種類の酸化生成体が得られた。そのうちの一つ、dehydro MDM II (26) は、IR, NMR, MS, $[\alpha]_D$ 融点などで、Carbomycin A と全く一致するとことが明らかになった。従って、MDM II の構造は、図に示す式と考えられる。更に、dehydro MDM II (26) を KI-AcOH で処理して得られる deepoxy 体 (28) が、Carbomycin B⁷⁾ と一致することから、MDM II の構造は確かなものと考えられる。



以上の様にして MDM II の構造が明らかにされたが、次に他の 5 成分も先に述べたように、物理化学的性質は MDM II にかなり類似している。特に、MS, NMR を MDM II と詳細に比較すると構造に関する有用な知見が得られた。即ち、MS では、各成分は図に示すような fragmentation pattern がみとめられ、MDM II との比較から、acyl mycarose に由来する(g), mycaminos に由来するfragment A(f), acylmycarosylmycaminos に由来する(i)から、各成分は中性糖の 4 位に種々の acyl 基を

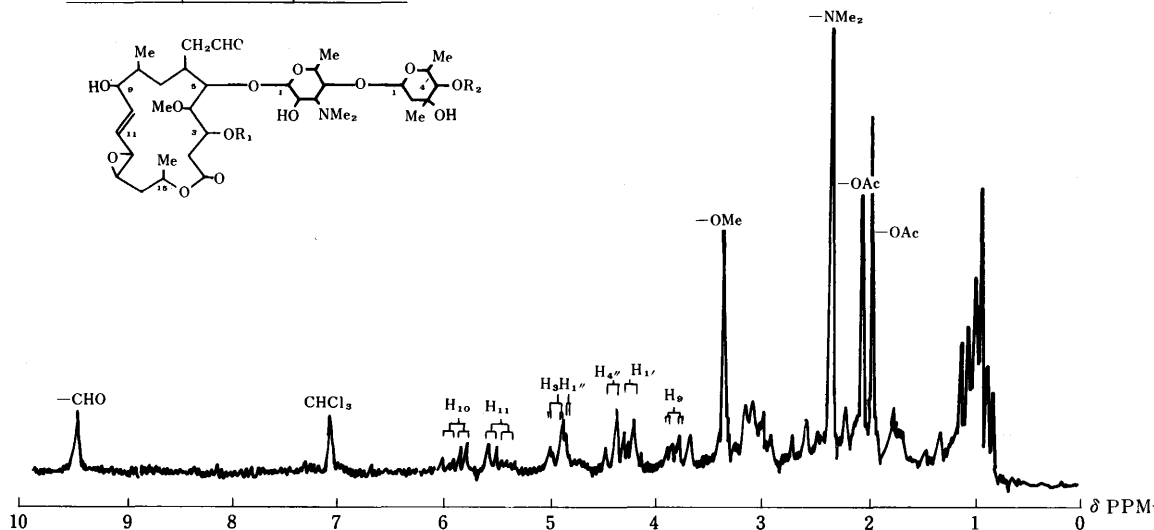
Mass Fragmentations of Maridomycins



		M ⁺	(a)	(b)	(c)	(d)	(a')b	(b')	(c')d	(d')	(a'')	(e)	(f)	(g)	(h)	(i)
MDM I	(1)	857	756	658	628	613	682	584	554	539	738	439	174	229	300	402
II	(2)	843	742	644	614	599	682	584	554	539	724	425	174	229	300	402
III	(3)	829	756	668	628	613	682	584	554	539	738	439	174	201	300	374
IV	(4)	815	742	644	614	599	682	584	554	539	724	425	174	201	300	374
V	(5)	815	756	658	628	613	682	584	554	539	738	439	174	187	300	360
VI	(6)	801	742	644	614	599	682	584	554	539	724	425	174	187	300	360
II DA	(9)	927	826	728	698	683	766	668	638	623		467	216	229	342	444
II MA-1(10)		885	784	686	656	641	724	626	596	581		425	216	229	342	444
II MA-2(11)		885	784	686	656	641	724	626	596	581		467	174	229	300	402

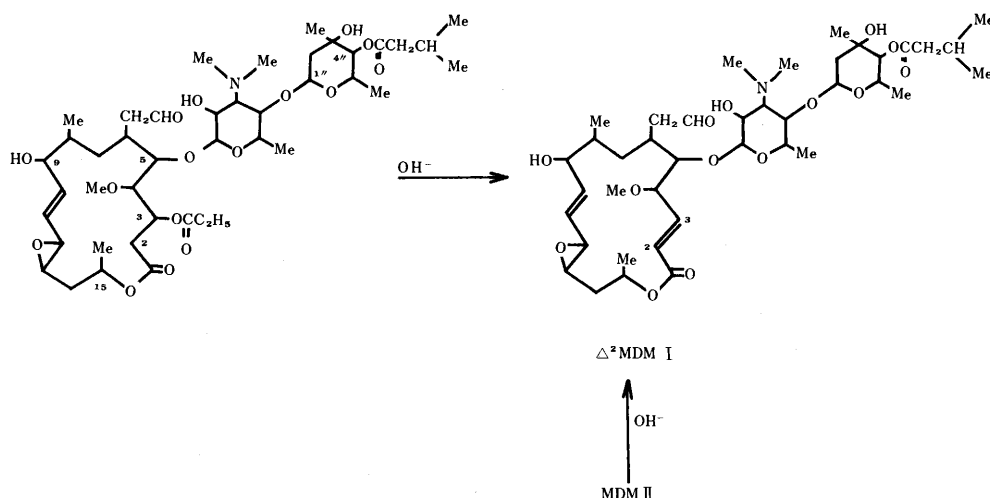
	secMe	OAc
MDM I	δ0.99(9H, d)	—
II	1.00(9H, d)	2.25(3H, s)
III	1.05(3H, d)	—
IV	1.04(3H, d)	2.24(3H, s)
V	1.03(3H, d)	2.16(3H, s)
VI	1.01(3H, d)	2.17(3H, s) 2.26(3H, s)

NMR Spectrum MDM VI
 (in CDCl₃)



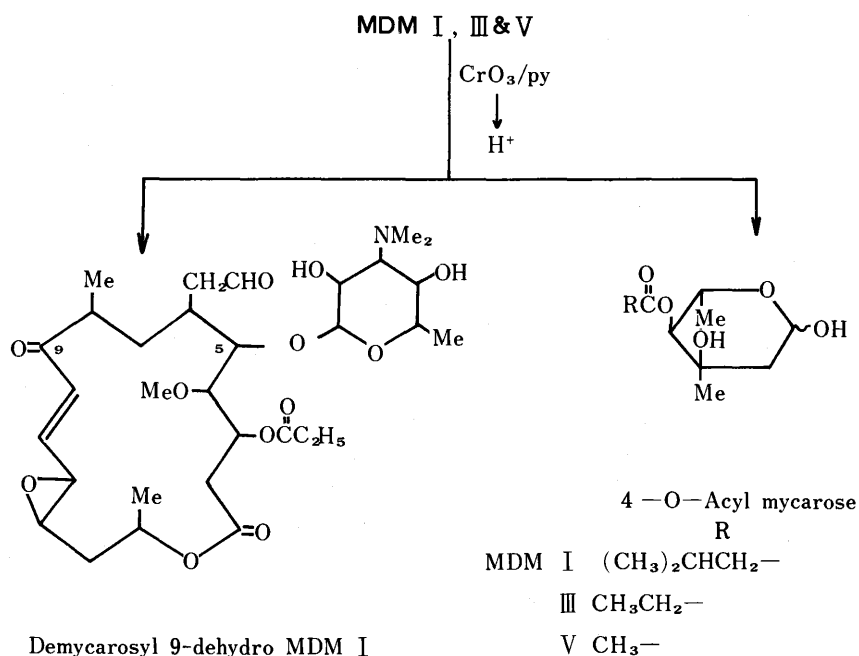
有する disaccharide の構造が推定された。又, aglycone に由来する peak(e) が, MDM II, IV, VI では m/e425, MDM I, III, V では, m/e439 にみとめられ, aglycone 部分も類似と考えられる。

次に, NMR では, 各成分の全ての signal を assign することは, 困難であるが, 特徴的な signal はいずれも assign 可能で, 一例として最も signal の overlap の少ない MDM IV の spectrum を示した。MDM II との比較から, 図に示すような signal が assign された。各成分における明らかな相違は, 高磁場の二級 methyl と -OAc の signal にみとめられる。各成分の構造は, 次のような化学的変換により決定された。

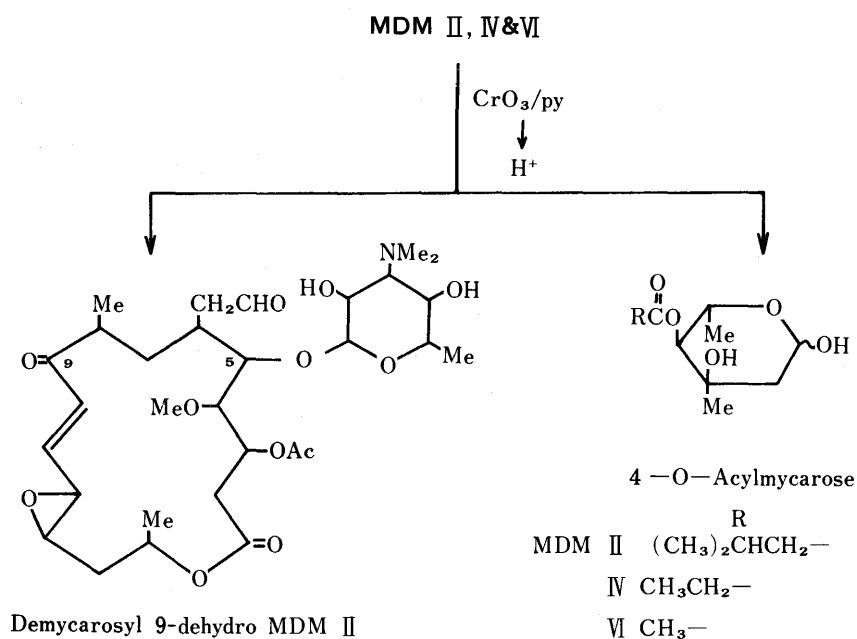


即ち, MDM I をアルカリで緩和に処理すると, aglycone の propionic acid が選択的に脱離して, α , β -不飽和 lactone (Δ^2 -MDM I) を生成するが, 本物質は, MDM II を同様に処理して得られたものと全く一致することから, MDM II との相違は, aglycone の C-3 位の acyl 基によるものであることが明らかになった。

残りの MDM III ~ VI については, 直接酸加水分解しても aglycone 部分に関する知見は得難いので, まず $\text{CrO}_3/\text{pyridine}$ で酸化後, 緩和に酸加水分解すると, 中性糖, 4-O-acylmycarose と, 塩基性の demycaroyl 体とが得られ, 各々の比較により構造が明らかになった。即ち, 図に示すように, MDM I, III, V を各々酸化後, 加水分解すると, 同一の塩基性物質, demycarosyl 9-dehydro 体 が得られ, 中性糖としては, L-mycarse の 4-O-acyl 体, 即ち, MDM I からは isovaleryl III からは, propionyl, V からは acetyl ester が各々得られた。従ってこれら成分は, 同一の aglycone からなり, その相違は, mycarose の 4 位の acyl 基にあることが確かとなった。



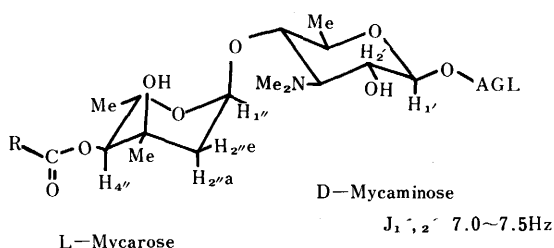
MDM II, IV, VI についても同様に酸化後、酸加水分解すると、それぞれ acyl 基の異なる 4-O-acylmycarose と、同一の塩基性の demycarosyl 体が得られることから、これらの成分の相違も mycarose の 4 位の acyl 基にあることが明らかになった。



次に、MDM の立体構造について検討すると、まず sugar 部分では、mycarose の結合様式は H₁' と H₂'

の coupling constant が小さいことから, α 結合と考えられ, 又 $J_{4'',5''}$ が $9.5-10.0\text{Hz}$ と大きいことから, $H_{4''}$, $H_{5''}$ は trans diaxial と考えられる。mycaminose の結合様式は, $J_{1',2'}$ が $7.0-7.5\text{Hz}$ と大きいことから, β 結合とみなされる。

Stereochemistry of Sugar Portion in Maridomycins

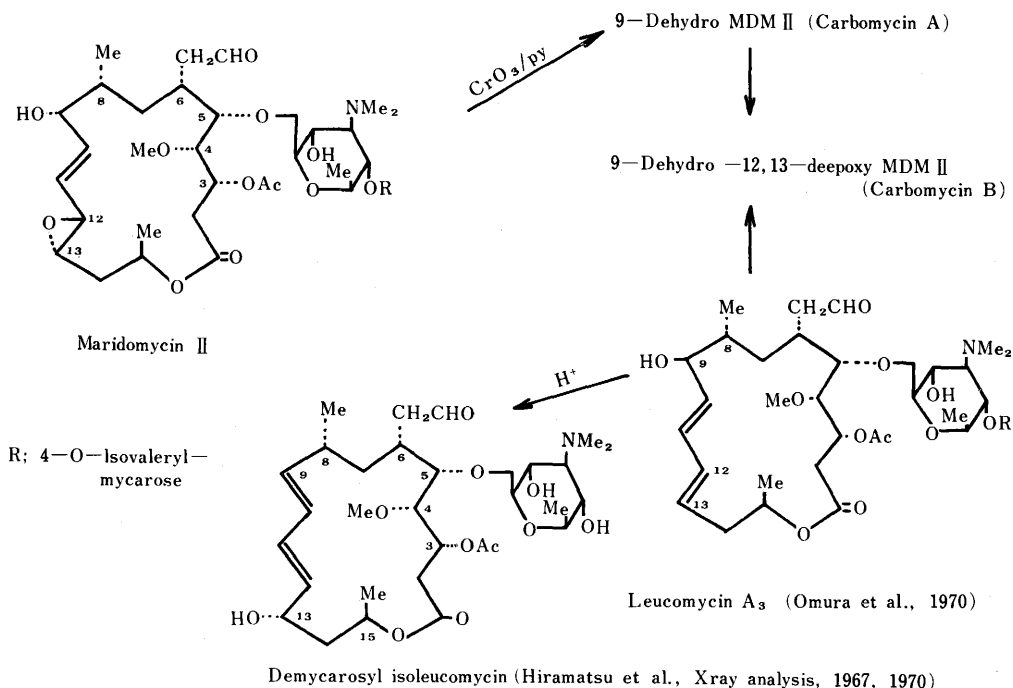


$J_{1'',2''a}$	$3.0-3.5\text{Hz}$
$J_{1'',2''e}$	$1.0-1.5\text{Hz}$
$J_{4'',5''}$	$9.5-10.0\text{Hz}$

AGL : Aglycone

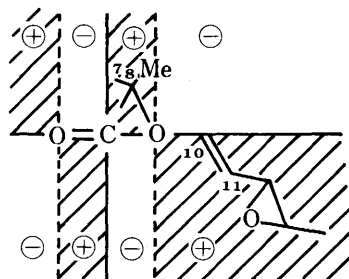
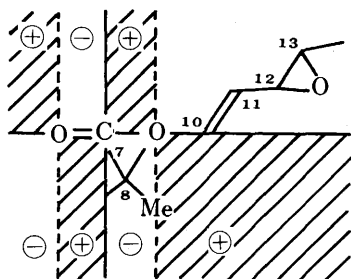
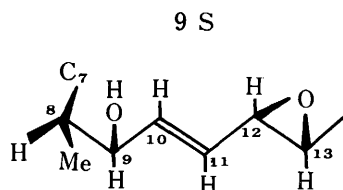
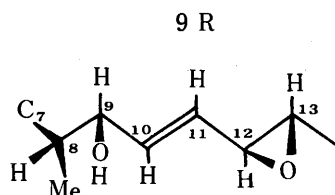
aglycone 部分については, 不斉炭素が 9 ケと多く, 各々の立体配置を決めるのは容易ではないが, 16 員環 macrolide のうち, X線解析により絶対構造の明らかになっている demycarosyl isoleucomycin⁸⁾ と化学的に関連づけることにより, Maridomycin の立体配置も明らかにされた。

Interrelationship & Stereochemistry in the Aglycone of 16-membered macrolide



demycarosyl isoleucomycin は, leucomycin A₃ を酸水解することによって得られる artifact A であるが⁹⁾ 酸により変化を受けない, C-3, 4, 5, 6, 8 及び15位の配置は leucomycin A₃ でも同じであると考えてよい。一方 leucomycin A₃ を酸化すると, Cavbomycin B が得られる⁽¹⁰⁾ ので, MDM II を酸化後, deepoxydation すると, Carbomycin B が得られる事実と合わせると, 必然的に, MDM の C-3, 4, 5, 6, 8, 15位の立体配置は決まることになる。又, Carbomycin A で, 化学的に C-13, 15位の立体配置が決定されているので^{7d)}, MDM では, C₁₂-C₁₃位の epoxide は $J_{12, 13} \leq 2.0$ Hz より trans とみなされる¹¹⁾ ことを考慮すると, C-12位の配置も S と決まることになる。残る 9 位の水酸基の立体配置については, 二級水酸基の立体配置の決定に用いられる “Benzoate sector rule”⁽¹²⁾ を適用すると, R と推定された。

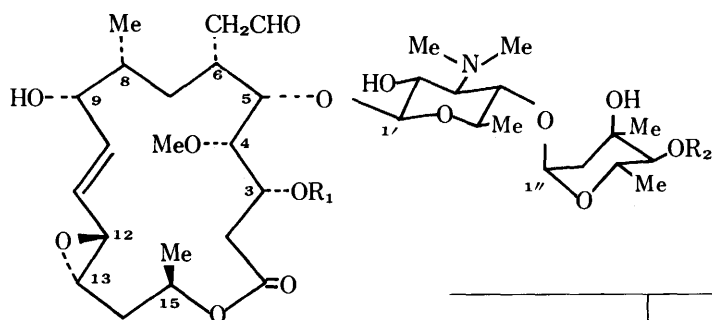
$J_{8, 9}$	3.0—3.5
$J_{9, 10}$	8.5—9.0
$J_{10, 11}$	15.0—16.0
$J_{11, 12}$	8.5—9.0
$J_{12, 13}$	≤ 2.0



MDM III 9-Benzoate $[\theta]_{230} - 31100$

MDM 及びその 9-benzoate の 8 位から13位迄の proton の J 値は, 図に示すようにほぼ一定であり, しかもその値から C₉-C₁₂位は, ほぼ coplaner で, H₉と H₁₀は trans と考えられる¹³⁾。そこで, MDM III 9-benzoate について, benzoate sector rule を適用すると, $[\theta]_{230} - 31100$ の負の Cotton 効果を示すことから, 9 位は R と推定される。これは, 9-propionate の X線解析¹⁴⁾ の結果と一致し, 又, その他の部分の立体構造も推定通りであることが確かめられた。

Stereochemistry of Maridomycins



	R ₁	R ₂
Maridomycin I	COCH ₂ CH ₃	COCH ₂ CH(CH ₃) ₂
II	COCH ₃	COCH ₂ CH(CH ₃) ₂
III	COCH ₂ CH ₃	COCH ₂ CH ₃
IV	COCH ₃	COCH ₂ CH ₃
V	COCH ₂ CH ₃	COCH ₃
VI	COCH ₃	COCH ₃

論文の審査結果の要旨

新抗生物質 Maridomycin を分離し、さらにこれが maridomycin I ~ VI に分離されることを見出した。

その中 maridomycin II について NMR, マススペクトルおよび化学反応により構造を検討し、これが16員環マクロライドの構造であることを決定した。

さらに maridomycin I, III, IV, V, VI はマススペクトルの詳細な検討により、それらの構造を決定した。

以上の知見は薬学博士として十分価値があることを認める。