Osaka University Knowledge Archive

Title	α-スルホセファロスポリン類の合成研究
Author(s)	南, 功
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33485
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

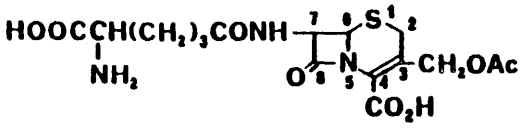
【12】

氏名・(本籍)	南(みなみ)　功(いさお)
学位の種類	薬　学　博　士
学位記番号	第　5928　号
学位授与の日付	昭和58年3月3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	**α-スルホセファロスポリン類の合成研究**
論文審査委員	(主査)教授 岩田　宙造
	(副査)教授 池原　森男　教授 枡井雅一郎　教授 田村　恭光

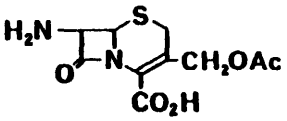
論文内容の要旨

緒　言

Cephalosporinの研究は1955年NewtonおよびAbraham[1]によりCephalosporium acrenoniumからcephalosporin Cが単離されたことに始まる。本物質の構造は1961年に化学的な方法[2]およびX線結晶解析[3]により1式と決定され，penicillinと同様にβ-lactam環を有する抗生物質であることが明らかにされた。



Cephalosporin C (1)

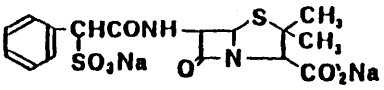


7-ACA (2a)

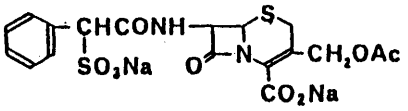
Cephalosporin Cは比較的抗菌力が弱くそのままの形では実用的価値はなかった。1962年Morinら[4]により7位acyl側鎖を化学的に切断し，7-aminocephalosporanic acid (7-ACA, **2a**) を合成する方法が開発された。それ以来7-ACAを鍵化合物とした半合成cephalosporinの研究がおこなわれるようになった。その結果，今日迄に多数の半合成cephalosporinが感染症治療薬として実用化されている (Table 1)。しかしながら著者がcefsulodinを見い出すより以前に知られていた薬剤は抗緑膿菌活性を示さず，菌交代現象によって生じる緑膿菌感染症には全く無力である。従来，抗緑膿菌剤として使用されているgentamicinのようなaminoglycoside系抗生物質は毒性が強くその使用は比

較的限定されている。それ故，低毒性の抗緑膿菌剤の開発が近年益々重要視されてきた。

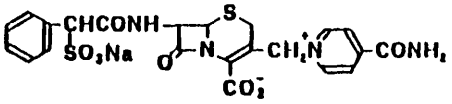
著者は半合成penicillinの研究において野村ら[5]により開発されたsulbenicillin（SB-PC，**3**）が比較的強い抗緑膿菌活性を示すことに注目し，sulbenicillinより更に強力な抗緑膿菌活性を示す薬剤をcephalosporinで見い出すことを目的に本研究を開始した。



Sulbenicillin　(3)
SB-PC



(R)*-5



Cefsulodin (CFS, (R)*-10b)

7-ACAの7位amino基に（R)-α-sulfophenylacetyl基を導入したcephalosporanic acid体（(R)-**5**)は，sulbenicillinと同程度の抗緑膿菌活性を示した。この化合物（(R)-**5**）の抗緑膿菌活性の増強を目的として3位acetoxymethyl基の化学修飾をおこなった。その結果，sulbenicillinの10倍，gentamicinに匹敵する強力な抗緑膿菌活性を示す7-（(R)-α-sulfophenylacetamido）ceph-3-em-4-(4′-carbamoylpyridinio)methyl-4-carboxylate（cefsulodin，(R)-**10b**）を見い出した。Cefsulodinは緑膿菌感染症に有効なcephalosporinとして，また安全性の高い薬剤として世界で初めて実用に供されるにいたった。

Cefsulodinは緑膿菌を除く他のグラム陰性菌に対する活性は弱かった。そこで緑膿菌および緑膿菌以外のグラム陰性菌にも強い活性を示すcephalosporinを得る目的で，cefsulodin類縁体の合成と抗菌活性について検討した。抗菌活性については満足した結果を得ることができなかったが，合成面においてヘテロ環を有するα-スルホ酢酸類の合成法を見い出した。

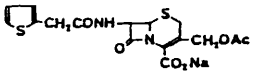
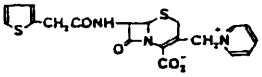
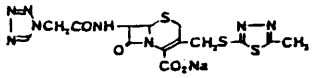
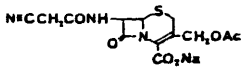
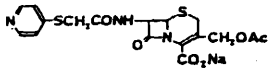
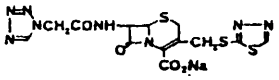
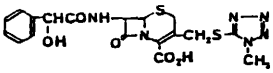
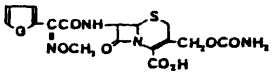
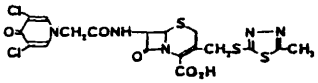
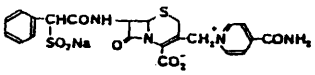
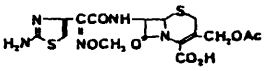
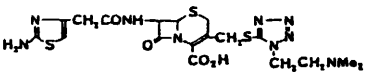
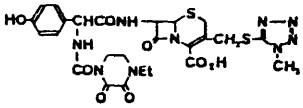
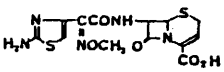
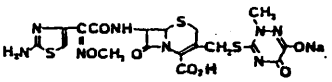
第1章　7-α-Sulfophenylacetyl cephalosporin類の合成

著者は緑膿菌感染症に有効なcephalosporinを見い出すことを目的として，α-sulfocephalosporin類の合成に着手した。半合成cephalosporinの研究においては，7-ACA（**2a**）の7位amino基のacyl化による修飾および3位acetoxymethyl基の修飾が可能でありどちらも抗菌性に大きな影響を及ぼすことが知られている[6]。本章では，7-(α-sulfophenylacetamido)cephalosporanic acid (**5**)の合成および**5**の3位acetoxymethyl基の化学修飾によって得られる種々の誘導体の合成について述べる。

---

*　(R) は7位acyl側鎖の不斉炭素の絶対配置を示す。

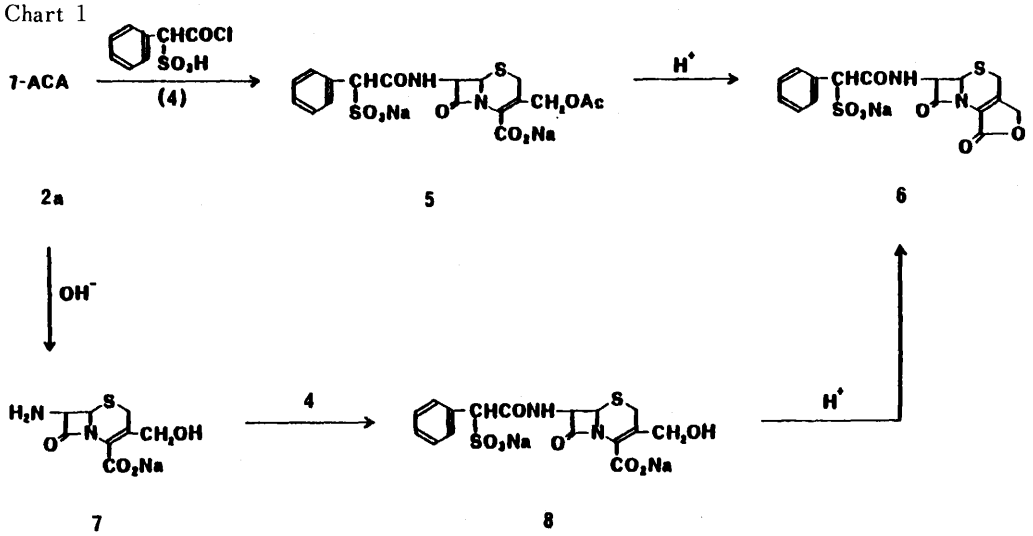
Table 1 Parenteral Cephalosporins

Common Name	Structure	Originator	Launched Year
Cephalothin		Lilly	1964
Cephaloridine		Glaxo	1964
Cefazolin		Fujisawa	1971
Cephacetrile		Ciba-Geigy	1973
Cephapirin		Bristol	1974
Ceftazole		Fujisawa	1978
Cefamandole		Lilly	1978
Cefuroxime		Glaxo	1978
Cefazedone		E. Merck	1979
Cefsulodin		Takeda	1979
Cefotaxime		Hoechst-Uclaf	1980
Cefotiam		Takeda	1981
Cefoperazone		Toyamakagaku	1981
Ceftizoxime		Fujisawa	1982
Ceftriaxone		Roche	1982

第1節　7-(α-Sulfophenylacetamido)cephalosporanic acid およびその類縁体の合成

7-(α-Sulfophenylacetamido) cephalosporanic acid(**5**)は，7位acyl側鎖の不斉炭素により2つのdiastereoisomerが存在する。これら2つのdiastereoisomer ((R)-**5**，(S)-**5**) は光学活性なα-sulfophenylacetyl chloride ((R)-**4**，(S)-**4**)[5b] を7-ACA (**2a**) と反応させて合成した。7-Acyl-aminocephalosporadesic acidを化学的に合成することは容易ではなく，通常7-acylamino-cephalosporanic acidにacylaseを用いる酵素反応に依存している[7]。著者は7-ACA (**2a**) をアルカリで加水分解して7-aminocephalosporadesic acid(**7**)とし，次に**7**とacid chloride ((R)-**4**) を反応させる化学的な方法により7-((R)-α-sulfophenylacetamido)cephalosporadesic acid ((R)-**8**) を合成した。またlactone体 ((R)-**6**) は (R)-**5**あるいは (R)-**8** を酸処理して合成した (Chart 1)。

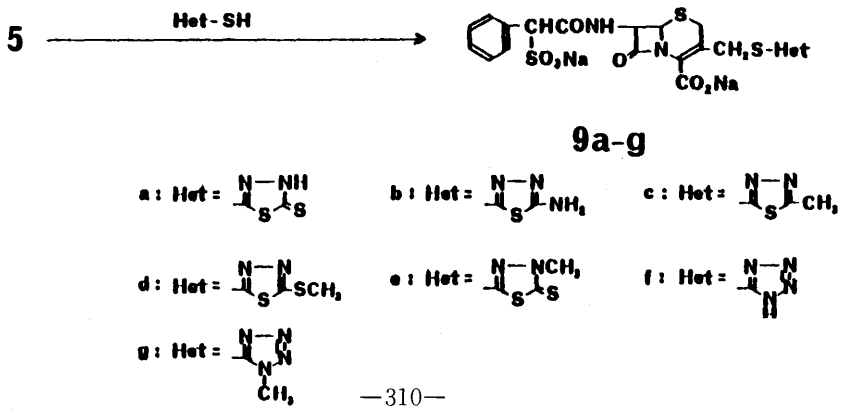
Chart 1



第2節　7-(α-Sulfophenylacetamido) ceph-3-em-3-heterocyclicthiomethyl-4-carboxylate類の合成

7-Acylaminocephalosporanic acidの3′位acetoxy基は種々の求核試薬と反応することが知られている[8]。2つのdiastereoisomerのうち，より強い抗菌活性を示した (R)-**5**をheterocyclic thiolと水溶液中加温することによりheterocyclicthiomethyl体 (**9a-g**) を合成した (Chart 2)。

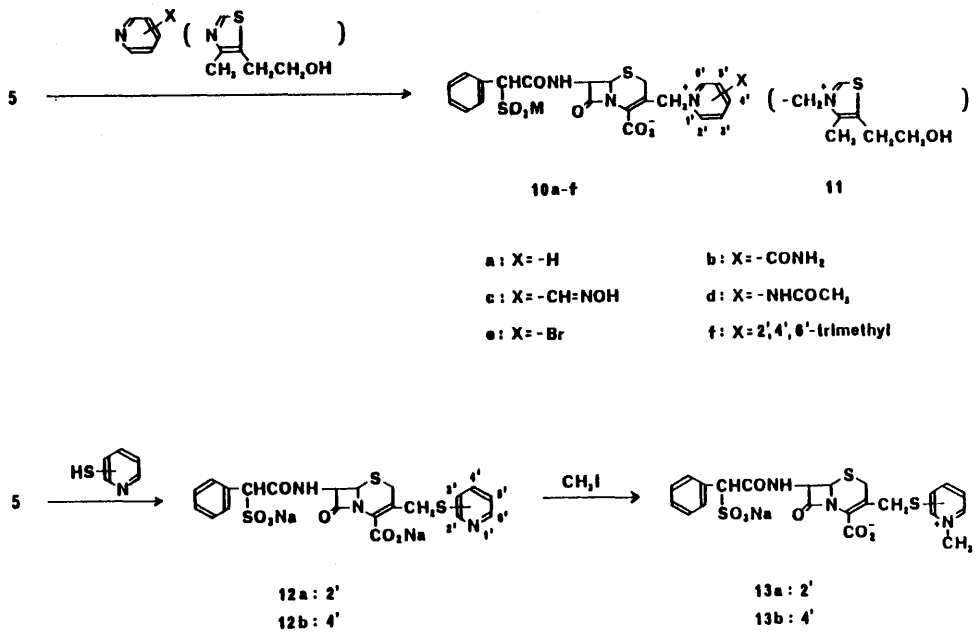
Chart 2



第３節　３位側鎖にプラスチャージをもつ7-α-sulfophenylacetyl cephalosporin類の合成

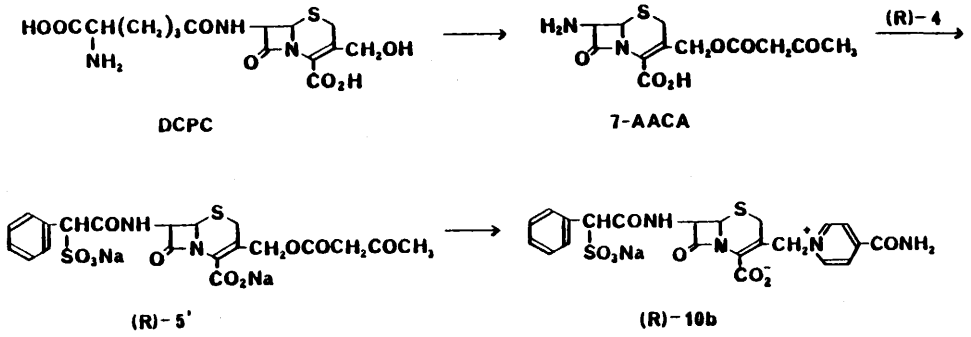
Heterocyclic tertiary amine類を求核試薬とする3′位acetoxy基の置換反応は大過剰の無機塩の添加により収率が顕著に上昇することが知られている[9]。**5**をヨウ化水素酸，heterocyclic tertiary amineと共に無機塩の飽和水溶液に加え加温することによりpyridiniomethyl体（**10a-f**，**11**）を合成した。またpyridiniothiomethyl体（**13a**，**b**）は**5**を第１章第２節の方法に従ってpyridylthiomethyl体（**12a**，**b**）とした後，CH_3Iと処理することにより合成した（Chart 3）。

Chart 3



Cefsulodin（(R)-**10b**）の合成において，醗酵生産物として得られるdeacetylcephalosporin C（DCPC）[10]から誘導される7-amino-3′-O-acetoacetyldeacetylcephalosporanic acid（7-AACA）を用いて別途合成法を検討した。**5′**から（R)-**10b**を合成する3′位置換反応において**5**から（R)-**10b**を合成するそれと比較して約10%の収率の向上が認められた（Chart 4）。この合成ルートはcefsulodin（(R)-**10b**）の工業的生産の立場からみて有益な方法であることが分った。

Chart 4



第２章　7-α-Sulfophenylacetyl cephalosporin類の抗菌活性

第１章で合成した化合物（**5, 6, 8, 9a-g, 10a-f, 11, 13a, b**）の最小発育阻止濃度（MIC）を寒天希釈法により測定した。被検菌としてはグラム陽性菌としてブドー球菌（Staphylococcus aureus 209p），Pc-G耐性ブドー球菌（Staphylococcus aureus No.87）を，グラム陰性菌として大腸菌（Escherichia coli IFO 3044, Escherichia coli NIHJ），変形菌（Proteus vulgaris IFO 3045）および緑膿菌（Pseudomonas aeruginosa IFO 3448, Pseudomonas aeruginosa NCTC 10490）を用いた（Table 2, 3, 4を参照）。

試験した化合物の中で，(R)-**10a**および（R)-**10b**はsulbenicillinの10倍そしてgentamicinに匹敵する強力な抗緑膿菌活性を示した。(R)-**10a**と（R)-**10b**を患者から分離した緑膿菌119株を用いてそれらの抗菌活性を比較したところ，(R)-**10b**は（R)-**10a**を上回る活性が認められた(Fig. 1を参照)。(R)-**10b**は毒性試験においても高い安全性が認められ一般名cefsulodin（CFS）としてcephalosprinでは世界で初めての抗緑膿菌剤として実用化された。

第３章　７位acyl側鎖α位にマイナスに荷電した置換基を有するcephalosporinの合成と抗菌活性

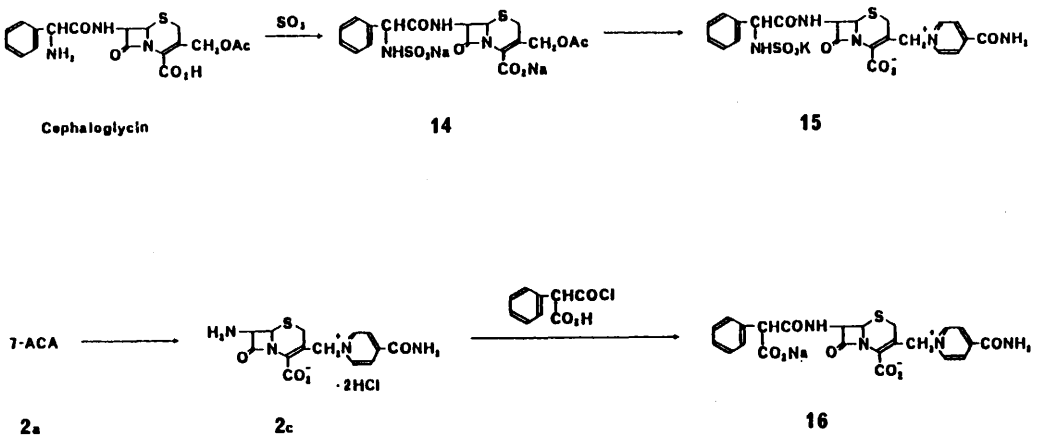
Cefsulodinは緑膿菌には強い活性を示したが，緑膿菌以外のグラム陰性菌に対する活性は弱かった。そこで緑膿菌および緑膿菌以外のグラム陰性菌にも強い活性を示すcephalosporinを得る目的で，cefsulodin類縁体の合成とその抗菌活性について検討した。

本章では７位acyl側鎖α位にsulfoamino基およびcarboxyl基を有するcefsulodin類縁体の合成とそれらの抗菌活性について述べる。

第１節　合成法

７位acyl側鎖α位にsulfoamino基を有する化合物**15**はcephaloglycinをSO_3-TEA complexでsulfonation後，第１章第３節で述べた方法に従って合成した。一方，７位acyl側鎖α位にcarboxyl基を有する化合物**16**は7-ACA(**2a**)をWilsonら[12]の方法に従って3′位置換誘導体（**2c**）とし，**2c**をα-carboxyphenylacetyl chlorideでacyl化して合成した（Chart 5）。

Chart 5



第２節　抗菌活性

第２章で述べたと同様に化合物**15**および**16**の最小発育阻止濃度（MIC）を測定しcefsulodin（(R)-**10b**）と比較した（Table 5を参照）。

化合物**15**および**16**の緑膿菌および緑膿菌以外のグラム陰性菌に対する抗菌活性はcefsulodinよりも弱かった。しかし，７位のacyl側鎖にマイナスチャージをもち，３位側鎖にプラスチャージをもつ構造的特徴を有する化合物に抗緑膿菌活性が認められることが分った。

第４章　７位acyl側鎖にヘテロ環を有するα-sulfocephalosporin類の合成と抗菌活性

前章と同様の目的でcefsulodin類縁体の合成とその抗菌活性について検討した。

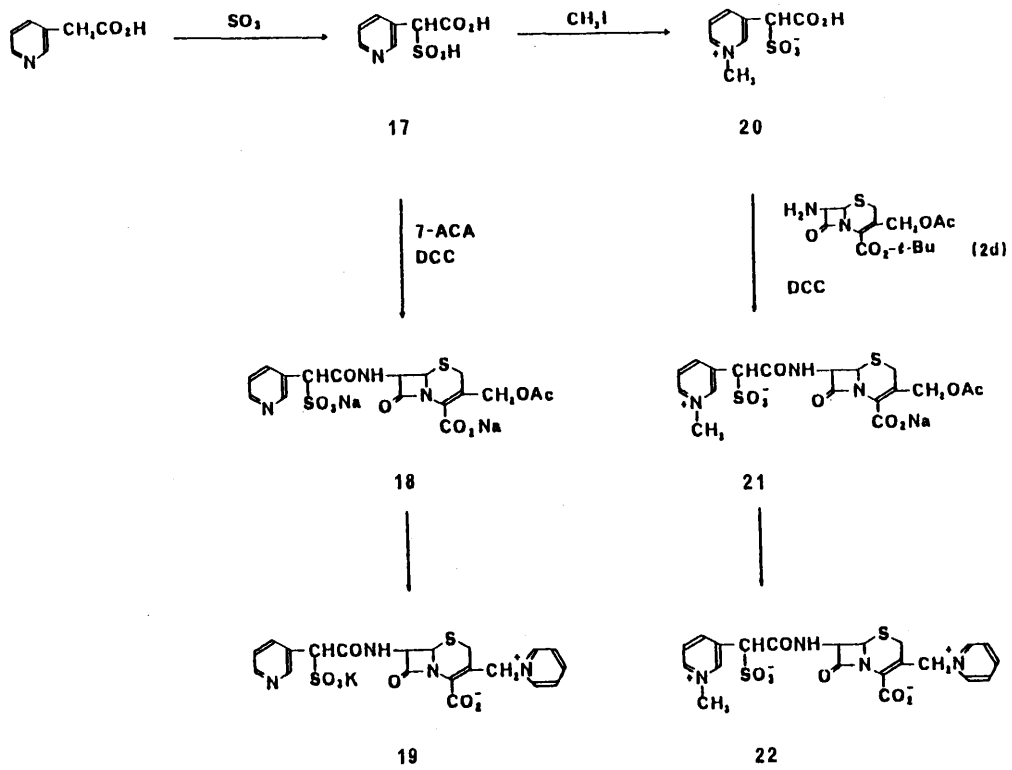
本章ではcefsulodinの７位acyl側鎖のphenyl基をヘテロ環（pyridyl, thienyl, 2-aminothiazolyl）に置き換えたα-sulfocephalosporin類の合成とそれらの抗菌活性について述べる。

抗菌活性については満足した結果を得ることができなかったが，合成面において，これまで全く知られていなかったヘテロ環を有するα-スルホ酢酸類の合成法として興味ある方法を見い出した。

第１節　7-〔2-Sulfo-2-(3-pyridyl) acetamido〕-および7-〔2-sulfo-2-(1-methyl-3-pyridinio) acetamido〕ceph-3-em-3-pyridiniomethyl-4-carboxylateの合成

3-Pyridylacetic acidをSO_3と処理してsulfonic acid体(17)を得た。**17**をCH_3Iと処理してbetaine体(20)を得た。cephalosporanic acid体(18)および(21)は**17**と7-ACAおよび**20**と7-ACAのt-butyl ester体（**2d**）[13]からそれぞれDCC法により合成した。3-Pyridiniomethylcephalosporin(19)および(22)は

Chart 7

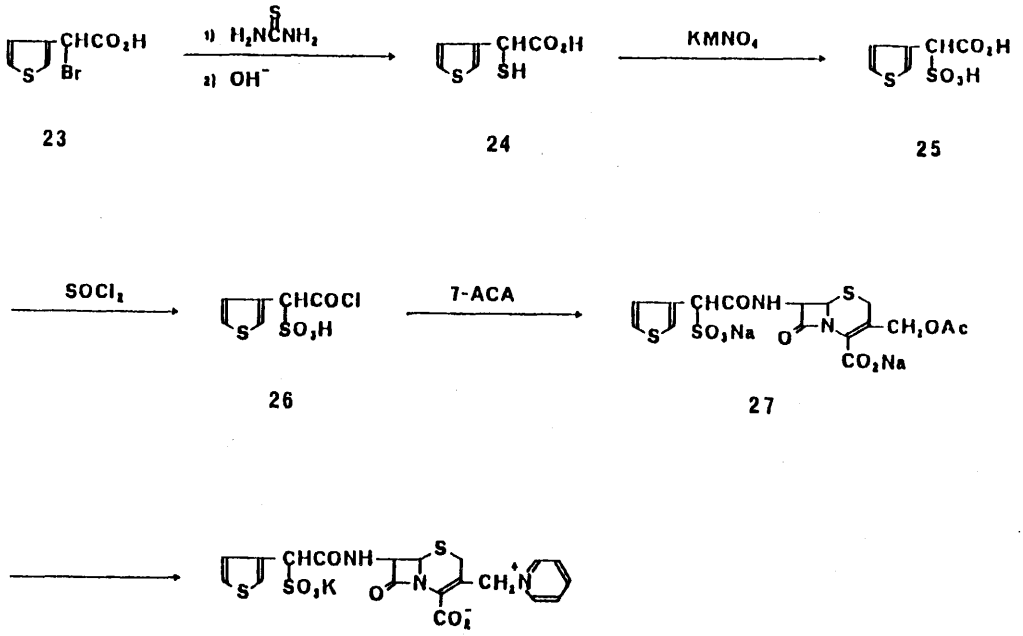


18および**21**からそれぞれ第1章第3節で述べた方法により合成した（Chart 6）。

第2節　7-〔2-Sulfo-2-（3-thienyl）acetamido〕ceph-3-em-3-pyridiniomethyl-4-carboxylate の合成

2-Bromo-2-(3-thienyl) acetic acid(**23**)[14] をチオ尿素と反応させたのち，アルカリで加水分解してmercapto体(**24**)に導き，**24**を$KMnO_4$で酸化してsulfonic acid体(**25**)を合成した。cephalosporanic acid体(**27**)は**25**を$SOCl_2$と処理してcarboxylic acid chloride体(**26**)としたのち，7-ACAと反応させて合成した。3-Pyridiniomethylcephalosporin(**28**)は**27**から第1章第3節で述べた方法により合成した（Chart 7）。

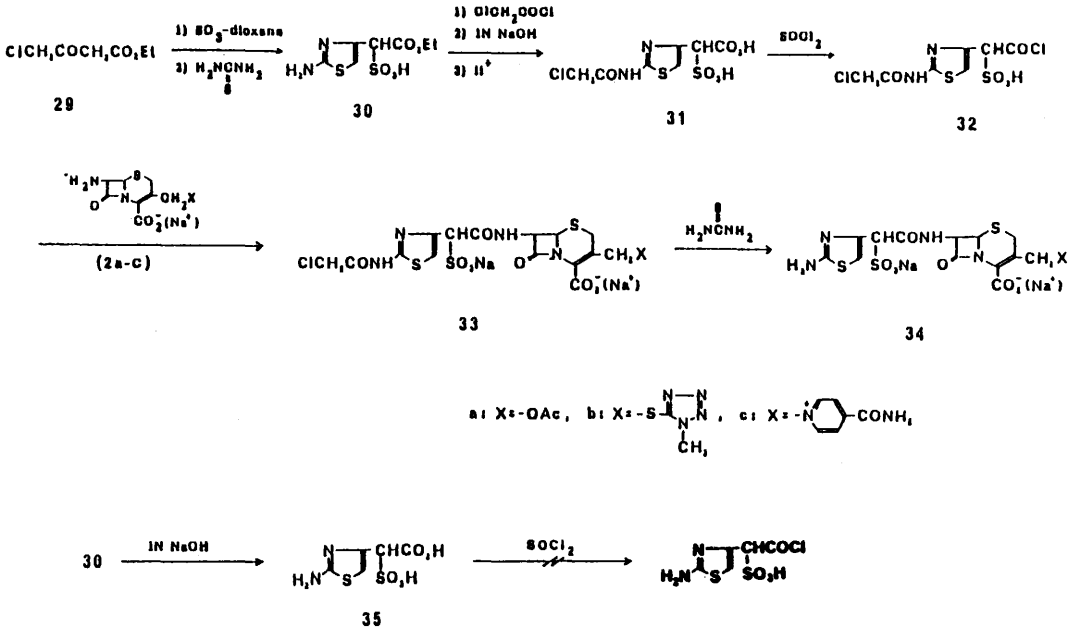
Chart 7



第3節　7-〔2-(2-Aminothiazol-4-yl)-2-sulfoacetyl〕cephalosporin類の合成

γ-Chloroacetoacetate(**29**)[15] をSO_3-dioxane complex[16] と反応させ中間体を単離することなくチオ尿素と反応させてaminothiazolylsulfoacetate体(**30**)を得た。**30**をアルカリで加水分解してsulfoacetic acid体(**35**)とし，35を$SOCl_2$と処理したがcarboxylic acid chloride体を得ることはできなかった。そこで**30**のamino基をchloroacetyl基で保護したのち，アルカリで加水分解してchloroacetyl基で保護されたsulfoacetic acid体(**31**)とし，**31**を$SOCl_2$と反応させてcarboxylic acid chloride体(**32**)を得た。**32**を7-ACA（**2a**）およびその3′位置換誘導体（**2b, c**）と反応させてchloroacetyl基で保護されたα-sulfocephalosporin（**33a-c**）を得た。次いで**33a-c**のchloroacetyl基を除去して7-〔2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-sulfoacetyl〕cephalosporin（**34a-c**）を合成した（Chart 8）。

Chart 8



第4節　抗菌活性

第4章第1—3節で述べた化合物（**19**, **22**, **28**, **34a-c**）の最小発育阻止濃度（MIC）を寒天希釈法により測定した（Table 6, 7を参照）。

試験した化合物の中で**34c**は cefsulodin と同程度の抗緑膿菌活性を示し，緑膿菌を除く他のグラム陰性菌に対してもわずかに強い活性を示したが，著者が目的としたcefsulodinの欠点を補うような化合物は見い出せなかった。

結　論

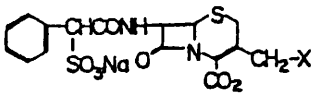
1　α-Sulfocephalosporin化合物30検体を合成しそれらの抗菌活性を調べた結果7-((R)-α-sulfophenylacetamido) ceph-3-em-3-（4′-carbamoylpyridinio) methyl-4-carboxylate（cefsulodin）は，sulbeniciillinの10倍，gentamicinに匹敵する強力な抗緑膿菌活性を有することを見い出した。Cefsulodinは世界で初めての緑膿菌感染症に有効なcephalosporinとして実用化された。

2．α-Sulfocephalosporin類およびその類縁体の抗菌活性の結果から，7位acyl側鎖α位にマイナスに荷電した置換基および3位側鎖にプラスに荷電した置換基を同時に有するcephalosporin化合物は，抗緑膿菌活性を有することを見い出した。

3．7-Acylaminocephalosporadesic acidの合成は通常7-acylaminocephalosporanic acidにacylaseを作用させる酵素反応に依存していたが，7-aminocephalosporanic acid（7-ACA）から出発して7-aminocephalosporadesic acidを経由する簡便な化学的合成法を見い出した。

4．ヘテロ環を有する新規α-スルホ酢酸類の合成法を開発した。

Table 2 Antibacterial Activities of (R)-and (S)-Cephalosporins.



Organisms	X=	5 (R) −OAc	5 (S) −OAc	10a (R)	10a (S)	10b (R)	10b (S)	SB-Pc[c] 3 (R)
S. aureus 209P		3.12[a]	50	1.56	3.12	3.12	12.5	0.78
S. aureus Pc-R[b]		3.12	100	3.12	12.5	3.12	25	12.5
B. subtilis PCI 219		6.25	50	6.25	50	6.25	50	0.10
Sa. lutea PCI 1001		12.5	>100	6.25	100	12.5	>100	0.20
E. coli IFO 3044		25	>100	100	>100	25	>100	12.5
P. vulgaris IFO 3045		12.5	>100	50	>100	50	>100	1.56
P. morganii IFO 3168		100	>100	>100	>100	100	>100	3.13
P. mirabilis IFO 12255		50	>100	50	>100	50	>100	1.56
Ps. aeruginosa IFO 3448		25	>100	1.56	25	1.56	25	12.5
Ps. aeruginosa NCTC 10490		3.12	100	0.39	12.5	0.39	25	3.12

a. Minimal inhibitory concetration(MIC) in μg/ml as determined by the ager dilution method.
b. Penicillin G-resistant strain.
c.

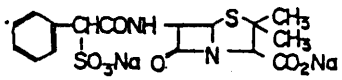
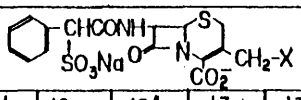


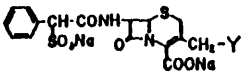
Table 3 Antibacterial Activities of 7-((R)-α-Sulfophenylacetamido) Cephalospporanic Acid an its Derivatives



Organisms	X=	10c	10d	10e	10f	13a	13b	11	8	6	SB-PC
Pseudomonas aeruginosa IFO 3080		6.25	25	100	100	100	>100	6.25	>100	>100	12.5
P.aeruginosa 10490		1.56	6.25	25	25	25	50	1.56	50	>100	3.12
Staphylococcus aureus 209P		3.12	3.12	3.12	12.5	3.12	1.56	1.56	25	3.12	0.39
Staph. aureus No.87[b]		6.25	6.25	12.5	12.5	6.25	1.56	3.12	50	3.12	6.25

a. Minimal inhibitory concentration(MIC) in μg/ml as determined by the agar dilution method.
b. Penicillin G-resistant strain.

Table 4 Antibacterial Activities



MIC μg/ml

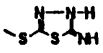
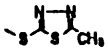
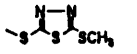
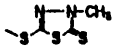
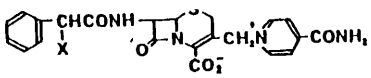
	Y \ Organism	P.aeruginosa NCTC 10490	E.coli NIHJ	Pr.vulgaris IFO 3045	S.aureus FDA 209P	S.aureus Pc-R
9a		12.5	6.25	3.13	1.56	12.5
9b		25	25	6.25	6.25	12.5
9c		100	25	6.25	6.25	12.5
9d		>100	25	6.25	3.13	12.5
9e		>100	50	50	0.78	3.12
9f		50	50	6.25	50	50
9g		100	25	6.25	3.12	12.5

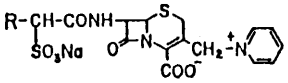
Table 5 Antibacterial Acilvities



No.	X	MIC μg/ml					
		P.aeruginosa IFO 3080	P.aeruginosa NCTC 10490	E.coli NIHJ	Pr.vulgaris IFO 3045	S.aureus FDA 209P	S.aureus Pc-R *
10b	$-SO_3Na$	1.56	0.39	25	50	3.12	3.12
15	$-NHSO_3K$	12.5	50	50	50	3.12	3.12
16	$-CO_2Na$	50	50	50	100	1.25	6.25

* Clinical isolates, No. 87

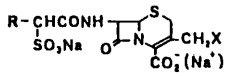
Table 6 Antibacterial Activities

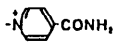
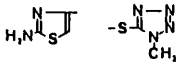
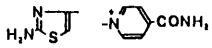
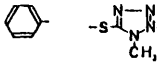


MIC μg/ml

	R \ Organism	P.aeruginosa NCTC 10490	E.coli NIHJ	Pr.vulgaris IFO 3045	S.aureus FDA209P	S.aureus Pc-R
10a		0.39	100	50	3.12	3.12
28		0.78	>100	100	1.56	3.12
19		12.5	>100	>100	3.12	12.5
22		50	>100	>100	25.0	25.0

Table 7 Antibacterial Activities Table 6 Antibacterial Activities



No.	R	X	Confign*	MIC μg/ml					
				P. aeruginosa IFO 3455	P. aeruginosa IFO 3080	E. coli NIHJ JC-2	P. vulgaris IFO 3988	S. aureus FDA 209P	S. aureus 1840
10b			(R)	0.78	1.56	50	100	3.13	6.25
			(RS)	1.56	3.13	100	>100	6.25	12.5
34a		-OAc	(RS)	>100	>100	1.56	6.25	50	100
34b			(RS)	>100	>100	0.78	1.56	12.5	25
34c			(RS)	1.56	1.56	25	50	6.25	12.5
5		-OAc	(R)	>100	100	100	50	3.13	12.5
			(RS)	>100	>100	>100	50	6.25	25
9g			(R)	>100	>100	25	12.5	3.13	12.5
			(RS)	>100	>100	50	12.5	6.25	25

* Configuration at asymmetric carbon in the side chain.

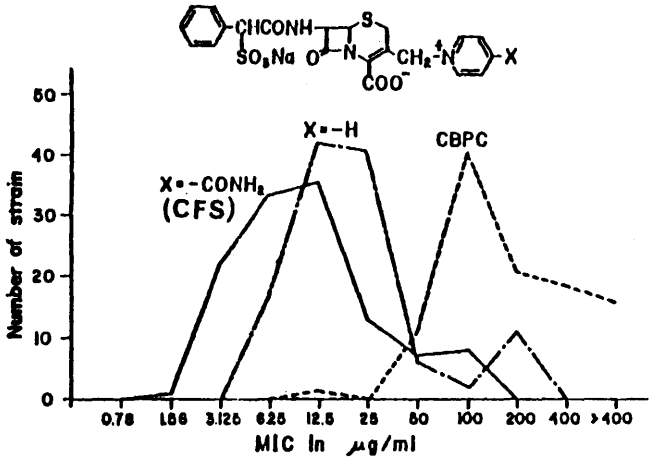


Fig. 1 Sensitivity Distribution of Clinical Isolate: P. aequginosa (119 strains).

参考文献

1) G. G. F. Newton and E. P. Abraham, Nature, **175**, 548 (1955).

2) E. P. Abraham and G. G. F. Newton, Biochem. J., **79**, 377 (1961).

3) D. C. Hodgkin and E. N. Maslem, Biochem. J., **79**, 393 (1961).

4) R. B. Morin, B. G. Jackson, E. H. Flynn and R. W. Roeske, J. Am. Chem. Soc., **84**, 3400 (1962).

5) a) S. Morimoto, H. Nomura, T. Ishiguro, T. Fugono and K. Maeda, J. Med. Chem., **15**, 1105 (1972). b) S. Morimoto, H. Nomura, T. Fugono, T. Azuma, I. Minami, M. Hori and T. Masuda, J. Med. Chem., **15**, 1108 (1972). c) S. Morimoto, H. Nomura, T. Fugono, I. Minami, T. Ishiguro and T. Masuda, J. Antibiotics, **16**, 146 (1973). d) S. Morimoto, H. Nomura, T. Ishiguro, T. Fugono and K. Maeda, Heterocycles, **2**, 61 (1974).

6) J. P. Hou and J. W. Poole, J. Pharm. Sci., **60**, 503 (1971).

7) J. D. A. Jeffery, E. P. Abraham and G. G. F. Newton, Biochem. J., **81**, 591 (1961).

8) J. D. Cocker, B. R. Cowley, J. S. G. Cox, S. Eardley, G. I. Gregory, J. K. Lazenby, A. G. Loug, J. C. P. Sly and J. A. Somerfield, J. Chem. Soc., **1965**, 5015.

9) J. L. Spencer, F. Y. Siu, B. G. Jackson, H. M. Higgens and E. H. Flynn, J. Org. Chem., **32**, 500 (1967).

10) Y. Fujisawa, H. Shirafuji, M. Kida, K. Nara, M. Yoneda and T. Kanzaki, Nature (London), New Biol., **246**, 154 (1973).

11) S. Tsushima, M. Sendai, M. Shiraishi, M. Kato, N. Matsumoto, K. Naito and M. Numata, Chem. Pharm. Bull., **27**, 696 (1979).

12) E. M. Wilson and A. C. W. Curran. Curran, Ger. Offen. 1,955,475 (1970) 〔C. A., **73**, 25453v (1970)〕.

13) R. J. Stedman, J. Med. Chem., **9**, 444 (1966).

14) S. Gronowitz, I. Sjogren, L. Wernstedt and B. Sjoberg, Arkiv. Kemi., **23**, 129 (1964).

15) C. D. Hurd and J. L. Abernethy, J. Am. Chem. Soc., **62**, 1147 (1940).

16) W. E. Truce and C. C. Alfieri, J. Am. Chem. Soc., **72**, 2740 (1950).

論文の審査結果の要旨

近年菌交代現象によって生じる緑膿菌感染症に対する治療薬の開発が待たれていた。

本論文はこれまでの知見をもとに種々検討し，世界で初めての緑膿菌感染症に有効なセファロスポリンとして7-((R)-α-sulfophenylacetamido) ceph-3-em-3- (4′-carbamoylpyridino) methyl-4-carboxylate (cefsulodin) を発見し，実用化した。その新薬開発の途中で7位acyl側鎖α位にマイ

ナス，３位側鎖にプラスにそれぞれ荷電した置換基を同時に有する化合物は抗緑膿菌活性を有することを見つけた。また７-aminocephalosporanic acidから７-aminocephalosporadesic acid の簡便な化学的合成法を見い出し，さらに新規α-スルホ酢酸類の合成法も開発した。

以上の成果は薬学博士の学位請求論文として価値あるものと認める。