

抗生物質の構造と抗菌作用，とくにアミノ糖を含む抗生物質について

梅 沢 純 夫

慶応義塾大学工学部 教授

§1. 緒言——構造と生物活性序説

構造と抗菌作用の関係の問題は“化学構造と生理作用”という大きな問題に含まれるわけであり、この関係には多くの因子が関与し、とくに特異的作用を有する薬物の場合にこの関係は複雑である。抗生物質は一般に特異的抗菌作用を示し、その構造と抗菌作用の関係には多くの因子が関与する。ここに特異的 Specific というのは、例えばある化合物の毒性が微生物に対して大きく、動物に対しては小さい。すなわち parasitropy が大で organotropy が小であるような場合、あるいは化合物が Gram-陽性菌に作用し、陰性菌には作用しないというような場合をいうのである。

抗菌作用の機構に関する諸問題の概要をとりあげてみるとつぎのとおりである。

1. 細胞透過性 Cell permeability

薬物には細胞表面に作用するものも多いが、いずれにしても透過性が大きく関与する。例えばストレプトマイシンの作用は細胞内のミトコンドリアの内部で起こるが、ストレプトマイシンが動物に対して大して作用しないのはミトコンドリア内に浸透できないためであると考えられる。耐性菌の耐性機構も透過性が関係しており、例えばストマイ耐性は細胞膜の透過性が変化して透過しにくくなっていることに基因すると考えられる。

なお、細菌細胞の立体特異的透過性を説明するために酵素が関与する透過系の存在が考えられており、これを“permease”と呼んでいる<sup>1)</sup>。

2. 損失の場 “sites of loss”

薬物は細胞内で作用に関与しない二義的な場所にも結合する。これは薬物の損失の原因になる。この問題は抗菌性物質に関して研究されれば例はないようである。

3. 作用の仕方 “mode of action”

薬物が作用を発揮したときまず知りたいのは作用の仕方である。たとえばストレプトマイシンの抗菌作用は細菌代謝の酸化サイクルの末端をなすピルビン酸とオキサロ酢酸の縮合を行なう酵素反応を阻害することに基因する。カナマイシンの主な mode of action も類似しており、Krebs cycle のカルボン酸類ピルビン酸、クエン酸などが拮抗的である<sup>2)</sup>。ストマイ耐性菌ではこのような

カナマイシンが起こす酸化サイクルの阻害が認められないことも報告<sup>3)</sup>されている。

Mode of action は一般に単一ではない。例えばカナマイシンは他方において、核酸と結合することによって細菌のタンパク質合成を阻害する作用も有する<sup>4)</sup>。

Mode of action の研究は放射性同位元素による研究法など最近著しく発達し、主要な抗生物質については mode of action が明らかにされている。

4. 作用の場 “site of action”

作用に関与する酵素の活性部分のことであり、エールリッヒがつとに提唱した名称を使用して受容体 receptor とも呼ばれる。酵素の研究は近時長足の進歩を遂げているが、作用の場の構造はほとんど不明であり、細胞には無数の酵素が組織的に存在すると考えられるから、これらの各酵素について receptor の構造を知ることは至難の問題である。

5. 化学構造と抗菌作用の関係

この問題は広い意味では上述の諸問題に関係する。特異的作用を示す化合物の作用は酵素系と化合物の結合によつてはじまると考えられ、その結合にはむしろ弱い結合すなわち水素結合、VAN DER WAALS 力などが関与すると考えられており、したがって可逆的な場合が多い。このような結合を起こす両者のうち酵素の receptor の構造はほとんど不明であるが薬物の方の構造がどのような場合に適合“fit”するかを推論することができる場合がある。

抗菌性物質が発見されるとこれに関連する構造の適合物を種々合成してその抗菌性を検討する方法によつて適合する構造を推論することができる。この研究は有用な化合物を合成する目的に役立つのである。

以下この問題について主として述べる。

抗生物質は現在 500 種以上も報告されているが、構造と抗菌作用が研究された例は比較的少ない。抗生物質には構造の複雑なものが多く合成が容易でないことが1つの原因であろう。かなり研究された例をあげると、ペニシリン、クロラムフェニコール、テトラサイクリン、プロマイシン、ポリペプチド抗生物質その他がある。

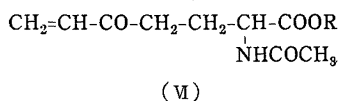
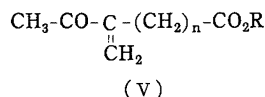
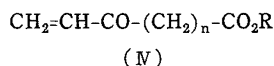
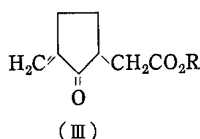
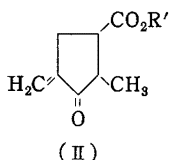
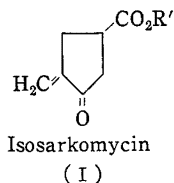
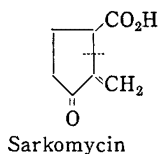
つぎに、ザルコマイシンとカナマイシンの構造と作用

の関係について演者らが得た最近の知見について述べる。

## §2. 構造と作用の関係の解析 その1

ザルコマイシン<sup>8)</sup>は抗腫瘍剤であつて、弱い抗菌力をも有する抗生物質である。この抗生物質は動物に対して毒性が非常に小さいにも拘らず、HeLa 細胞あるいは Ehrlich carcinoma に強力に作用する。

演者ら<sup>9)</sup>は次掲 I, II, III, IV, V および VI の5型に属する光学異性体を含む約 20 種の関連化合物を合成し *in vitro* および *in vivo* の試験を行なつた。



Isosarkomycin は sarkomycin の位置異性体であり、(IV) はザルコマイシンの環を切断 (点線で示す) した関連物質であり、(V) においてはメチレン基を分子内部に移動した型である。

大要つぎのような結論を得た (詳細は原報参照)。

- 1) Isosarkomycin について dl, d-, l-体いずれも光学異性体が抗腫瘍性と抗菌性を示した。
- 2) エステルがはるかに高い抗菌力を示した。これは透過性が関与していると考えられる。
- 3) 直鎖式に変化しても抗腫瘍性と抗菌力を保持した。
- 4) シクロペンタノン環の置換基の影響によつて作用の模様と毒性に変化が見られる。
- 5) メチレン基を直鎖の内部に移した場合 (V) に LD<sub>50</sub> はかなり大になる。

この種の化合物群は作用が ω-メチレンケト原子団 CH<sub>2</sub>=C-CO- の存在によつて特徴づけられていることを演者らは見いだした。これらの化合物分子はメチレンケ

ト原子団とそのキャリアー (carrier) とに分けて考察することができ、キャリアーのいかんによつて作用の模様と毒性が変化してくる。立体構造の影響は本質的ではない。メチレンケト原子団が腫瘍細胞に特異的に作用する点に興味があるわけである。

この原子団の作用機構としてはカルボニル基によつて活性化されたメチレン基に作用酵素のチオール基あるいはアミノ基が結合する反応が関与すると考えられる。

キャリアーの効果によつて LD<sub>50</sub>/ED の比は著しく変化し、ε-methylene-δ-ketocaproic acid (IV, n=3, R=1/2 Ca) の場合に最も良好な値が得られた。

しかるに、これに対応するアミノ酸誘導体 (VI, R=H) (ラセミ型, アセチル体) の場合には抗菌作用と抗 HeLa 作用いずれも大して有しないことを認めた。これは透過性にも関係すると考えられる。というのは、このエステル (VI, R=CH<sub>3</sub>) は強い抗 HeLa 作用を示したからである。

なお、本研究に関連して興味ある合成化合物として最近、BOTTINI ら<sup>10)</sup>は 1-aziridiny-3-buten-2-ol およびそのメチレン誘導体が Sarcoma 180 などに有力であることを報告し、これらは第二アルコール部が生体内酸化によつてケトンに変化して ω-メチレンケト基の型になつてアルキル化剤として作用するのであろうと推論している。

## §3. 構造と作用の関係の解析 その2

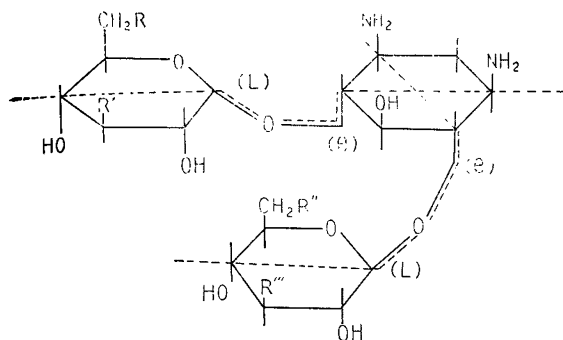
カナマイシンと関連物質の構造と抗菌作用の関係について述べる。この例は前例と異なり、抗菌作用が構造の立体化学的要因によつて特徴づけられる。

カナマイシンは梅沢浜夫博士<sup>8)</sup>によつて発見された抗生物質であつて、3-アミノグルコース、6-アミノグルコースおよびデオキシストレプトタミンの3成分から成る。3成分の結合位置については演者ら<sup>9)</sup>、CRON ら<sup>10)</sup>の研究があり、デオキシストレプトタミン (以下 DS) の4-位と6-位に3-アミノグルコースと6-アミノグルコースがα型のグルコシド結合をなしている。

ストレプトマイシン、カナマイシン、ネオマイシン、パロマイシンなどは水溶性塩基性抗生物質に属するが、これらの中でカナマイシンは構造的に最も秩序に富む化合物である。したがつて化学構造と作用の関係解析する目的に恰好であると考えられるのであつて、演者らは関連化合物を種々合成し、あるいはカナマイシンの水解産物を分離して、抗菌性と構造の関係を検討した。

演者ら<sup>11)</sup>は類似体として DS の4-位と6-位にグルコースがβ-型結合したもの (I), 3-アミノグルコースが同様に結合したもの (II), および6-アミノグルコースが同様に結合したもの (III) を合成したが、3者とも抗

菌力をはとんど示さなかつた。



- I : R, R', R'', R''' = OH; L =  $\beta$   
 II : R, R'' = OH; R', R''' = NH<sub>2</sub>; L =  $\beta$   
 III : R, R'' = NH<sub>2</sub>; R', R''' = OH; L =  $\beta$   
 Kanamycin : R', R'' = NH<sub>2</sub>; R, R''' = OH; L =  $\alpha$

演者らはこれらの合成品とカナマイシン、ネオマイシン、パロモマイシン、カナマイシンCなどの水溶性塩基性抗生物質の構造上の特徴を見出すために、Dreiding分子模型を組んで比較を試みたところ、抗菌力の強いこれらの抗生物質分子にはDSのアミノ基2箇のいずれかに対して近接した位置に少なくとももう1箇のアミノ基が存在することを認めたのである。

このようなアミノ基の配置をカナマイシンについてつぎに説明する。

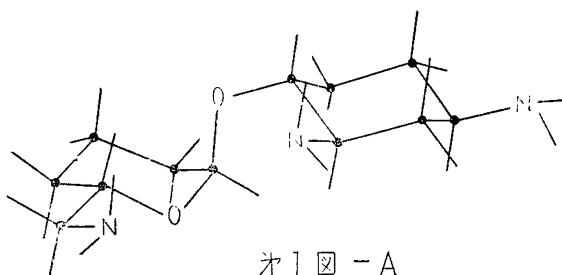
2箇のグルコシド結合は自由回転が可能であるから分子全体の配置は一義的には定まらないが、各成分環の間の重なり度合が極小になるような、したがって環相互の反発が極小になるような配置を選択することができる。このような配置は前掲式に示した2箇の点線部分がそれぞれ一平面に存在するような立体配置である(酸素原子を含む5原子が一平面上に存在する)。以下このような配置条件を点線条件と呼ぶ。

このような点線条件はそれぞれの点線について2種が可能であつて、ある点線条件にあてはまる配置から equatorial な結合軸のまわりに関与する成分のいずれかを 180° 回転した配置もまた点線条件を満足する。ただし、一方においてDSと糖環の平均平面が並行であれば、他方においてはある角度をもつことになる。

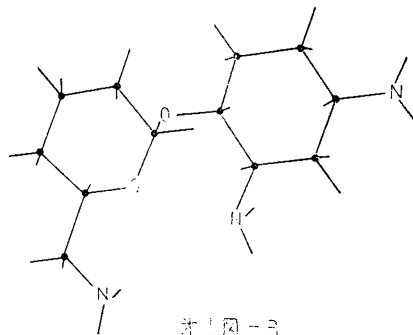
このようなコンホーメーションをカナマイシン分子中の6-アミノグルコースとDSの部分だけについて図に示すと第1図-Aのようになる。

DSについては第1図-Aに示したようなコンホーメーションをとつていること、すなわち、アミノ基、水酸基がすべて equatorial であることが核磁気共鳴の解析から LEMIEUX ら<sup>12)</sup>によつて最近証明された。

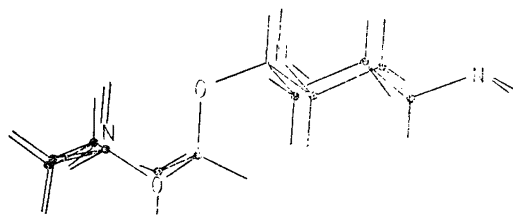
第1図-Bは上から見た図。アミノ基の接近が認めら



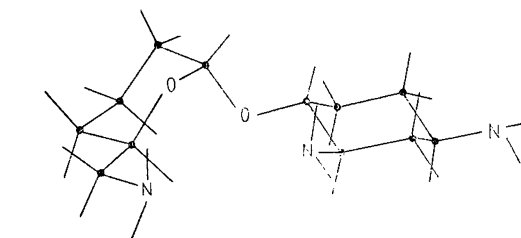
第1図-A



第1図-B



第1図-C



第2図

れる。

第1図-Cは横から見た図。成分環が平行であることが解る。

第2図は第1図-Aの場合から equatorial な結合軸のまわりに 180° 回転した場合であつて成分環がある角度をなしていることがこの図からも解る。アミノ基の近接も示されている。

カナマイシン分子中の別の部分すなわち3-アミノグルコースとデオキシストレプタミンが結合した部分について類似のコンホーメーションを検討してみると、3-アミノグルコースのアミノ基はDSのどのアミノ基とも近

第 1 表\*

反応成分	DS	G	2-AG	3-AG	6-AG	2-AD	3-AD	6-AD
DS	—	—	(2 A 2 AD) <sup>+</sup>	—	(6-AD) <sup>+</sup> **			
	G	—				(G 2 AD ?) <sup>+</sup>	—	(6 A 6 AD) <sup>+</sup>
		2-AG	—	—	—	(2 A 2 AD) <sup>+</sup>	(KMC) <sup>+</sup> **	(6 A 6 AD) <sup>+</sup>
			3-AG	—	—	(KMC) <sup>+</sup> **	—	(KM) <sup>+</sup> **
				6-AG	—	(2 A 6 AD) <sup>+</sup>	(KM) <sup>+</sup> **	(6 A 6 AD) <sup>+</sup>
					2-AD	(2 A 2 AD ?) <sup>+</sup>		
							3-AD	—
								6-AD
								(6 A 6 AD) <sup>+</sup>

\* 反応成分以外に抗菌力 (*B. subtilis*, *Mycobacterium* 607) があつた場合を + とした。

\*\* 同定されたもの。

上表中: KM: Kanamycin; KMC: Kanamycin C

G: Glucose

2-AG: 2-Amino-2-deoxy-D-glucose

2-AD: 4(or 6)-0-( $\alpha$ -D-2-Amino-2-deoxyglucosyl)-deoxystreptamine

3-AD: 4(or 6)-0-( $\alpha$ -D-3-Amino-3-deoxyglucosyl)-deoxystreptamine

2 A 2 AD: 4, 6-Di-0-( $\alpha$ -D-2-amino-2-deoxyglucosyl)-deoxystreptamine

2 A 6 AD: 4(or 6)-0-( $\alpha$ -D-2-Amino-2-deoxyglucosyl)-6 (or 4)-0-( $\alpha$ -D-6--amino-6-deoxyglucosyl)-deoxystreptamine

接することができず、且つ水酸基の立体障害も大きいことが認められる。

このようなアミノ基の近接が抗菌作用に関係すると考えるとカナマイシンの 6-アミノグルコースと DS の部分だけで抗菌力を有することが予想されるので、演者ら<sup>13)</sup>はカナマイシン分子から 3-アミノグルコース部だけ除去してみたところ、予想通りに 6-アミノグルコシル-デオキシストレプトアミンがかなりの抗菌力を示した。カナマイシンに比較するとはるかに弱いので、3-アミノグルコース部の存在によつて抗菌力が増強されているわけである。あるいは透過性が関与することも考えられる。

3-アミノグルコシル-ストレプトアミンは梅沢浜夫博士ら<sup>14)</sup>によつて分離されており、抗菌力を示さない。

演者らは上述の知見をさらに実証するために次の実験を行なつた。DS と各種アミノ糖の塩酸処理生成物をペーパークロマトグラフィーにかけたのである。本縮合法は古典的 FISCHER 法の変法であつて  $\alpha$ -グルコンドを生成し得ると考えたからである。ニンヒドリン発色とピオアウトグラフィーを適用した。本法によつて DS と縮合して抗菌力を発現するアミノ糖の種類を推定することができ、かなり多くの抗菌力を有する物質が生成するこ

とが判明した。結果を簡単にまとめると第 1 表のとおりである。

興味あることには DS の R<sub>f</sub> 値を 1 として 2-AD, 3-AD, 6-AD の R<sub>f</sub> 相対値 (R<sub>fD</sub>) を求めると他の高次の結合体の R<sub>fD</sub> は成分の R<sub>fD</sub> の積として推定できる。例えばカナマイシンの R<sub>fD</sub> (実験値) 0.29 は 3-AD と 6-AD の R<sub>fD</sub> (実験値) 0.67 と 0.43 の積 (0.29) に一致する。

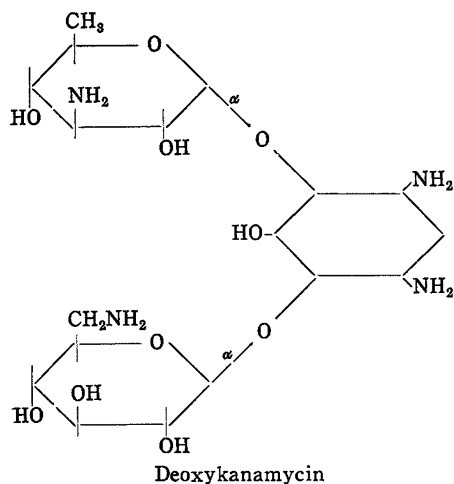
なお、本実験によつて 6 A 6 A 6 AD [すなわち 4,5,6-tri-0-( $\alpha$ -6-amino-6-deoxyglucosyl)-deoxystreptamine] なども抗菌力を有することを認めた。

本実験によつて、抗菌力を示す DS との組合せは 2-AG と 6-AG の場合であり、3-AG の場合には抗菌力は期待しがたいことが認められた。前 2 者の場合がアミノ基間隔の接近が可能な組合せである。4-AG の場合にも抗菌力は期待しがたい。

Trans-2-aminocyclohexanol と 2-アミノグルコースを上記塩酸縮合法にかけた生成物のピオアウトグラフィーは抗菌力を示すスポットを与えなかつた。この事実は DS のアミノ基 2 箇の存在が抗菌力に重要な役割を果していることを示唆している。

なお、演者ら<sup>15)</sup>はデオキシカナマイシン deoxykana-

mycin (次式) をカナマイシンから合成した。本物質はカナマイシンに酷似する抗菌スペクトルを示した。



上述したところを総合すると、抗菌力発現に重要な条件として、(1) DS の 2 箇のアミノ基のいずれかに対して、立体障害を受けずに接近した第三のアミノ基が存在する、(2)  $\alpha$ -グルコシド結合が重要である、これは透過性にも関係があるかも知れない、(3) 増強因子としての構造部分が存在する、ことなどを推論することができる。

#### 文 献

- 1) C. N. COHEN, J. MONOD, *Bacteriol. Revs.*, 21, 169 (1957)
- 2) A. GOUREVITCH, J. M. TYNDA, T. A. PUGLISI, J. LEIN, *Antibiotics Ann.*, 1958/1959, 784 (1959)
- 3) T. AOKI, A. HAYASHI, F. ITO, *J. Antibiotics*, A 13, 263 (1960)
- 4) T. NISHIMURA, N. TANAKA, H. UMEZAWA, *ibid.*, 15, 210 (1962)
- 5) H. UMEZAWA, T. YAMAMOTO, T. TAKEUCHI, T. OSATO, Y. OKAMI, S. YAMAOKA, T. OKUDA, K. NITTA, K. YAGISHITA, R. UTAHARA. S. UMEZAWA, *Antibiotics and Chemotherapy*, 4, 514 (1954)
- 6) S. UMEZAWA, M. KINOSHITA, *J. Antibiotics*, A 9, 194 (1956); *Bull. Chem. Soc. Japan*, 30, 267 (1957); *ibid.*, 32, 223 (1959); *ibid.*, 33, 266 (1960); *ibid.*, 33, 1075 (1960); *ibid.*, 34, 308 (1961); *ibid.*, 35, 795 (1962); H. UMEZAWA, T. TAKEUCHI, K. NITTA, T. HIKIJI, M. KINOSHITA, *J. Antibiotics*, A 14, 54 (1961)
- 7) A. T. BOTTINI, V. DEV, M. STEWART, *J. Org. Chem.*, 28, 156 (1963)
- 8) H. UMEZAWA, M. UEDA, K. MAEDA, K. YAGISHITA, S. KONDO, Y. OKAMI, R. UTAHARA, Y. OSATO, K. NITTA, T. TAKEUCHI, *J. Antibiotics*, A 10, 181 (1957)
- 9) S. UMEZAWA, Y. ITO, S. FUKATSU, *ibid.*, A 11, 120, 162 (1958); *Bull. Chem. Soc. Japan*, 32, 81 (1959); *ibid.*, 34, 69 (1961)
- 10) M. J. CRON, O. B. FARDIG, D. L. JOHNSON, D. F. WHITEHEAD, I. R. HOOPER, R. U. LEMIEUX, *J. Am. Chem. Soc.*, 80, 4115 (1958)
- 11) S. UMEZAWA, Y. ITO, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 34, 1540 (1961)
- 12) R. U. LEMIEUX, R. J. CUSHLEY, *Canad. J. Chemistry*, 41, 858 (1963)
- 13) S. UMEZAWA, T. TSUCHIYA, *J. Antibiotics*, A 15, 51 (1962)
- 14) H. UMEZAWA, K. MAEDA, M. MURASE, H. MAWATARI, *ibid.*, A 11, 163 (1958)
- 15) T. TSUCHIYA, S. IRIYAMA, S. UMEZAWA, *ibid.*, A 16, 173 (1963)