

氏 名	祐 田 泰 延 すけ た やす のぶ
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	薬 博 第 61 号
学位授与の日付	昭 和 44 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	薬 学 研 究 科 薬 学 専 攻
学位論文題目	ポリミキシンド, サーキュリンBの構造ならびに コリスチン産生新株の分離に関する研究

論文調査委員 (主 査) 教授 井上博之 教授 山科郁男 教授 富田謙吉

論 文 内 容 の 要 旨

ポリミキシン系抗生物質は、医薬品としての実用面のほか、(i)生合成、(ii)作用機作、(iii)構成成分として含まれているD型アミノ酸の生成機構などから注目されており、これらの諸問題を解明するにはまず化学構造を明らかにすることが必要であった。鈴木(友)らはこれらの抗生物質のうち Colistin, Polymyxin B および Circulin A の化学構造を決定した。著者は今回 Polymyxin D₁, Polymyxin D₂, Circulin B の化学構造を明らかにするとともに池田市の土壌より分離した *Bacillus polymyxa* の生産する抗生物質を分離精製し、それが Colistin であることを明らかにした。さらに Polymyxin 系抗生物質の化学構造と抗菌性についても検討し次の諸知見を得た。

I Polymyxin D₁, D₂ の化学構造 ATCC のポリミキシン産生菌10401を培養し、生成した抗生物質を Amberlite IRC-50 により分離し、向流分配し、二つの Peak をえた。これらの Peak からえられたもののアミノ酸組成はともに Threonine : Serine : Leucine : α , γ -Diaminobutyric acid = 3 : 1 : 1 : 5 で、Polymyxin D のアミノ酸組成と一致した。そこで分配係数の高い Peak からえられたものを Polymyxin D₁, 低いものを Polymyxin D₂ と命名した。Polymyxin D が2成分に分離されたのは今回が初めてである。

次いで、アミノ酸配列を細菌の蛋白質分解酵素を用いる酵素水解法と酸部分水解法とを組合せることによって決定しようとした。しかし Polymyxin D₁ を酵素分解すると、Colistin, Circulin などの場合と異なり予期しない分解がおこり、これらと同じように化学構造を決定することはできなかった。このため N→O 転移反応も組み合わせてその推定式を提出することができた(Fig 1)。

さらに Polymyxin D₂ については Polymyxin D₁ のときの(+)-6-methyloctanoyl 基(以下Moaと略す)が isooctanoyl 基(以下Ioaと略す)に代っているペプチド以外は、酵素水解物のクロマトグラフィーおよび電気泳動図が Polymyxin D₁ の酵素水解物のそれらと同じであったことから、Polymyxin D₂ は D₁ とただ脂肪酸のみが異なっている構造 (Fig 1) であると決定した。

II Circulin B の化学構造 Koffler らは Circulin A, B の化学構造はともに10個のアミノ酸からなる環状構造を有し, Moa の結合位置のみが異なっていると報告していた。しかし (1) Colistin A と B, Polymyxin D₁ と D₂ などの違いは脂肪酸のみであったこと, (2) 著者らが今までに構造決定した Polymyxin 系抗生物質すべて7個のアミノ酸からなる環状ペプチド3個のアミノ酸からなるペプチドのN末端に Moa または Ioa がついている側鎖ペプチドが結合している構造であったことなどから, Koffler らの提出している構造に疑問がもたれた。

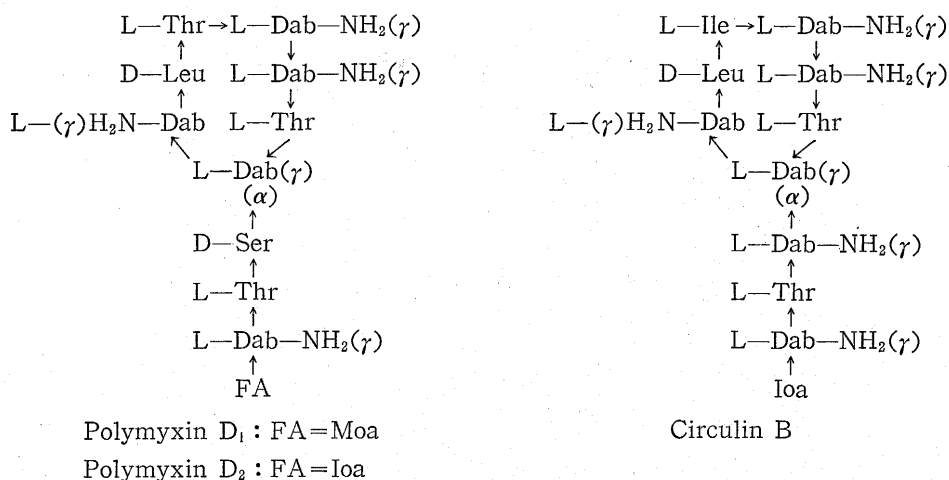
そこで Circulin B の構造を再検討するためその完全酸水解物より脂肪酸を抽出し, メチルエステルとし, ガスクロマトグラフィーによって Ioa と決定した。次いで脂肪酸の結合様式を調べるため, Polymyxin acylase で処置して deacyl circulin B をえたが, その DNP 体の酸水解物中からは di-DNP-Dab と γ -DNP-Dab のみが検出された。さらにその水層中の遊離アミノ酸の組成が Thr : Leu : Ile : Dab = 2 : 1 : 1 : 1 であったことなどから Circulin B の構造は, cyclic heptapeptide に側鎖ペプチドがついた構造であると考えられた。ついで Circulin B を酵素水解し, 3種のペプチド(1) Ioa $\rightarrow$ (α)Dab $\rightarrow$ Thr, (2) Ioa $\rightarrow$ (α)Dab $\rightarrow$ Thr $\rightarrow$ (α)Dab, (3) cyclic heptapeptid をえた。以上のような結果から Circulin B の構造は Fig 1 のごとく決定した。

III 池田市の土壌より分離した *B. polymyxa* の生産する抗生物質の分離精製ならびに化学構造

池田市の土壌より Polymyxin 生産菌を分離し, *Bacillus polymyxa* №39 と命名した。生産する抗生物質を向流分配法により精製して, 二つの抗菌力を示す Peak に分離し, Polymyxin 39 A, Polymyxin 39 B と呼ぶことにしたが, これらは構造研究の結果, それぞれ Colistin A, B と同一物質であることが明らかになった。しかし現在, コリスチンの工業的製造に使用されている *B. polymyxa* var. colistinus より colistin A の生産能が高いのが特徴である。

IV 化学構造と抗菌性

酵素分解法でえられた部分ペプチドを用いて構造と抗菌性の関係を検討した。さらに deacyl polymyxin 類を用いても脂肪酸の位置に選択的に他の置換基を導入した化合物を合成し, アチル基の抗菌力に及ぼす影響について検討した。



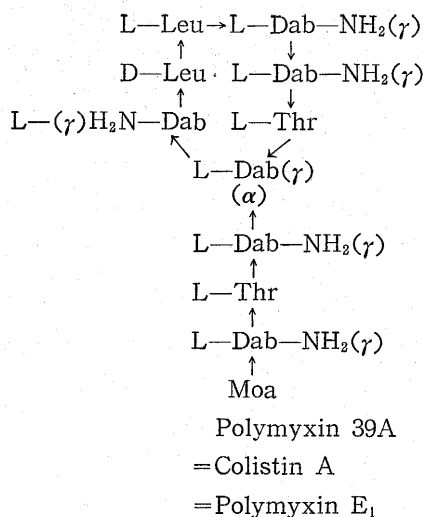


Fig. 1

その結果(1) 脂肪酸は抗菌力発現に必須である。(2) 環状構造が必要である。(3) Circulin と Polymyxin D でみられるように L-Dab を D-Ser で置き換えても抗菌力にはほとんど変化がない (4) 7 個のアミノ酸からなる環状部分ペプチドのみでは抗菌作用を示さないなどの知見をえた。

論文審査の結果の要旨

Polymyxin 抗生物質は医薬品として実用に供せられ種々の細菌性疾患の治療に重要な役割を果たしている。しかしその中の数種の物質の構造はなお明らかではなかった。

著者はまず Polymyxin 産生菌 *Bacillus Polymyxa* ATCC 10401 の培養液より Polymyxin D₁, D₂ を分離し両者の構造を決定した。次に従来推定構造式に疑問の持たれた Circulin B についても再検討を行ないその構造式を訂正した。

これらはいずれも他の Polymyxin 類と同様、7 個のアミノ酸からなる環状ペプチドに、N 末端に Moa あるいは Ioa の結合した 3 個のアミノ酸からなる側鎖が結合した特異なペプチドである。

次に著者は池田市の土壌より新 Polymyxin 産生菌を分離し、その生産物が Colistin A と B とであることを明らかにした。この菌は特に Colistin A の生産能が高いので注目される。

最後に著者はこれら Polymyxin 類を酵素的あるいは化学的手段により modify して得た種々の物質につき抗菌力の比較を行ないそれらの構造と抗菌性との関係について若干の知見を得た。

以上の研究は薬学博士の学位論文として充分価値あるものと認定する。