

論文内容要旨

本研究は新規抗生物質探索研究の過程において著者によって発見され、構造が解明された新抗生物質 Laidlomycin に関するものである。

I 検索の方法： 著者は数年来放線菌の培養濾液から新抗生物質を見出す方法の一つとして、濾液の抗菌活性、抗Mycoplasma 活性及び細胞毒性の三つの活性を同時に検定し、その抗微生物スペクトラム即ちAnticellogramのパターンから新抗生物質を含む濾液を効率良く選択する方法を考案し実施して来た。本法の特徴は被検MycoplasmaとしてAcholeplasma laidlawiiを用い、血清存在下及び非存在下の異なる培地で検定し、両条件下での感受性の差を利用する事により既知抗生物質との異同を容易に判定し得る所にある。事実本法によりこれまで著者らによって多数の新抗生物質が見出されて来た。Laidlomycinは本検索法により選択された培養濾液から単離された新抗生物質で、ニワトリのコクシジウム症に著効を示すpolyether系の物質である。

II 醗酵と精製： Laidlomycinは山梨県西湖附近の土壌より著者によって分離された放線菌Streptomyces eurocidicus var. asterocidicusを2% glucose及び0.5% peptoneを基本とした培地中で27°C、約70時間振盪培養するとその濾液中に約55 mcg/mlの生産量をもって産生される。濾液を塩酸性とした後、酢酸エチルで抽出し、抽出液を減圧濃縮して得られるシロップをSephadexLH20及びSiO₂カラムクロマイトで精製し、laidlomycinを無色塊状晶のモノカルボン酸として単離した。

III 物理化学的性状： Laidlomycinは組成C₃₇H₆₂O₁₂(M⁺:698), [α]_D²⁵+51.3°を有するm. p. 151~153°のモノカルボン酸で、そのNa塩, C₃₇H₆₁O₁₂Na(M⁺:720.4016), [α]_D²⁵+78.9°, m. p. 277~279°, は濾液のPHを未調整(PH6.5)のまま上記と全く同様に抽出精製するか、laidlomycinのアルコール溶液を1NのNaOHで処理後CHCl₃で抽出する事によって得られる。両者共に水には全く不溶で有機溶媒に可溶であるという特徴を有している。さらに両者は、Vanillin-硫酸で桃色を呈する他はFeCl₃, Molisch, Liebermann-Burchard反応などは陰性である。両者のIR(KB)から、カルボキシル基(free: 1,710cm⁻¹, Na塩: 1,560cm⁻¹), エステル基(1,725cm⁻¹), 水酸基(3,350cm⁻¹)及びエーテル結合(1,000~1,100cm⁻¹)の存在が支唆され、PMR(CDCI₃)からは9ケのMe基(C-CH₃ 2ケ, CH-CH₃ 6ケ, CH₂-CH₃ 1ケ), 8ケのエーテル或は水酸基の根元のプロトン及びエステルの根元のプロトン1ケ(5.1ppm, dd)の存在が支唆されたが、芳香環, 二重結合, アセテル基及びメトキシル基など

は存在しない事が判明した。以上の諸物性並びに後述する生物活性は laidlomycin が polyether 系抗生物質である事を強く支論した。

Ⅳ 構造決定： Laidlomycin-Na と monensin B-Na ($C_{35}H_{59}O_{11}Na$, $M^+678.3911$) の Mass, PMR 及び CMR を詳細に比較解析した結果以下の事実が明らかとなった。即ち① laidlomycin には monensin B に存在する $-OCH_3$ 基が存在せず、そのかわりエステル基が存在する、②両者の base peak (m/e 603, 組成 $C_{33}H_{56}O_8Na$ の基本骨格に相当) が共通で、それ以下の low mass 領域での解裂様式が完全に一致する事、③ high mass 領域での解裂様式は laidlomycin の方が常に C_2H_2O 相当分だけ大きく、これは組成式及び分子量の差と一致する事、④ laidlomycin の PMR を decoupling する事により、monensin B の側鎖上に存在する $-OCH_3$ 基をその炭素上で $-OCOCH_2CH_3$ 基と置換した部分構造を有している事、⑤さらに CMR のデータも著者が提出せんとする本物質の構造を良く説明する事。以上から著者は laidlomycin の構造として、monensin B と同一の基本骨格を有し、側鎖の $-OCH_3$ 基がその位置で $-OCOCH_2CH_3$ 基と置換したものと決定した。これまで 12 種の polyether 系抗生物質が報告されているが、エステル基を有する物質は本物質が初めてであり、生合成及び構造活性相関の見地から興味ある物質であると考えている。

Ⅴ 生物学的性状： 本物質はグラム陽性菌の一部に弱い活性を示す他は、他の陰性菌や酵母、カビ類には全く活性を示さない。一方多くの Mycoplasma には毒性を示す（最小発育阻止濃度： $4 \sim 20 \text{ mcg/ml}$ ）が特に A. laidlawii に対する作用は特異的で、血清添加培地上ではその MIC が 20 mcg/ml であるのに対して無添加培地上では 0.16 mcg/ml と、その比が約 100 倍もある事である。この特性は他の既知 polyether 系抗生物質にも共通であった。この理由は未解決であるが①血清蛋白と結合しない事、②血清によって不活化されない事、③ ionophore としての作用を有する事などを考え併せると、血清の有無が本物質の cell 内への透過性に影響しているものと考えている。一方本物質は各種の動物細胞に対して強い毒性を発現し (MIC: $0.1 \sim 0.01 \text{ mcg/ml}$)、マウスに於る急性毒性は ip で 5 mg/kg , iv で 1 mg/kg であった。また抗ウイルス活性、抗ガン活性は今までのところ認められていない。最後に本物質はニワトリの原虫病であるコクシジウム症に著効を示し、対照群のニワトリが全匹盲腸部に強度の病変を起こす条件下で、本物質を 0.005~0.01% に含む飼料で飼育した群では全く病変を認めず、体重の増減も正常で、Eimeria tenella の感染を完全に防禦した。

以上新抗生物質 laidlomycin を発見し、その構造を解明し、本物質が高い抗コクシジウム活性を有する事を初めて明らかにした。

審査結果の要旨

本論文はポリエーテル系の新規抗生物質であるレイドロマイシンを産生する放線菌を発見し、培養して精製を行い、有効物質を結晶として単離し、その構造を決定し、生物学的活性を明らかにした一連の系統的業績である。

著者は長年にわたって抗生物質のスクリーニングを行って来たが特に世界で最小の細胞といわれるマイコプラズマの内、コレステロールを要求しないアヒヨレプラズマ (*Acholeplasma laidlawii*) を被検菌としてスクリーニングを行うと共にヒト細胞に対する毒性と比較して、従来未知の新抗生物質を効率良くえらび出す方法を案出した。この方法で著者の見出したひとつの抗生物質がレイドロマイシンですでに抗コクシジウム活性で世界的に用いられているモネンシンと類似の構造を有するポリエーテルである。多くの器機分析法を駆使して、レイドロマイシンはモネンシンBと同一の基本骨格を有し、側鎖の $-OCH_3$ 基が $-OOCOCH_2 \cdot CH_3$ 基と置換したものと決定した。現在まで世界で12種のポリエーテル系抗生物質が知られているが、初めてエステル基を有する物質がここに単離された。

生物活性は *Acholeplasma* に 0.16 mcg/m で発育阻止活性を示す他、各種の組織培養細胞に $0.1 \sim 0.01 \text{ mcg/ml}$ で発育阻止作用を示す。マウスの急性毒性は ip で 5 mg/Kg であるが、ニワトリのコクシジウム症にレイドロマイシンを $0.005 \sim 0.01\%$ 含む飼料で飼育し、完全に防禦作用を示す事が明らかになり、現在世界的に本物質の有効性が検討されている段階である。

以上本論文は医学博士の学位を授与するに値するものと認める。