

新規経口性ペネム β -ラクタム抗菌薬：ファロムの創製石黒正路,^{*,a} 西原達郎,^b 田中里枝^a(株)サントリー生物有機科学研究所,^a (株)サントリー生物医学研究所,^b

〒618-8503 大阪府三島郡島本町若山台 1-1-1

New Orally Active Penem Antibiotic: Farom

Masaji ISHIGURO,^{*,a} Tatsuro NISHIHARA^b, and Rie TANAKA^aSuntory Institute for Bioorganic Research,^a Suntory Biomedical Research Limited,^b

1-1-1 Wakayamadai, Shimamoto-cho, Mishima-gun, Osaka 618-8503, Japan

(Received August 27, 2001)

An orally active penem antibiotic, Farom (generic name: faropenem), was designed by the conformational analysis of active and inactive penem derivatives. Faropenem showed potent activity against a wide variety of bacteria including extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing ones. The mechanism of the stability against ESBL was elucidated by modeling the Michaelis complex of faropenem and Toho-1, an ESBL. Modeling of a complex of faropenem at the active site of a penicillin-binding protein 2 (PBP2) model suggested the characteristic affinity for faropenem with PBP2 of *Escherichia coli*. Faropenem has been totally synthesized from (*R*)-1,3-butanediol. The synthetic intermediate, a 3-hydroxyethyl-4-acetoxyazetidione derivative, was efficiently prepared by the 2+2 coupling of an optically active vinylsulfide derivative and chlorosulfonyl isocyanate, followed by the substitution of the acetoxy group for the thiophenyl group at the C-4 position.

Key words—penem; β -lactam antibiotic; orally active; β -lactamase; penicillin-binding protein

緒言

ペニシリンの発見以来、セファロスポリンを含む数多くの半合成 β -ラクタム薬が主として注射剤として開発されてきている。その中のいくつかはプロドラッグとして経口投与が可能であるが、経口吸収後に発生するホルムアルデヒドなどの加水分解副成物の影響が懸念されてきた。一方、これら β -ラクタム薬に対する耐性菌が顕在化し、今まで有効であった経口 β -ラクタム薬の抗菌作用が無効となる例が増加している。このような課題を解決する特長を見出すために、ペニシリンとセファロスポリンのハイブリッド骨格を持つペネムについて、ペネム骨格のコンパクトさを壊さず、合成的に容易な 2 位側鎖をもち、良好な抗菌活性と経口吸収性を示す誘導体のデザインを行った。そこで、標的酵素の活性部位の不斉性を考慮し、さらに分子の疎水性と経口吸収の関係を意識して 2 位側鎖に不斉炭素を導入し、この側鎖のコンフォメーションのコンピュータを用いた解析による構造と活性との相関解析から新しい構

造のデザインを目指した。その結果、2 位側鎖にテトラヒドロフラン環を有する新規構造のペネム誘導体ファロム[®] (一般名：ファロペネム) をデザインし、新規経口性ペネム抗菌薬として開発した。本総説ではファロペネムのデザイン、標的酵素に対する作用機作、そして合成について述べる。

1. ペネム骨格構造のデザイン

ペネム骨格は 1970 年代半ばに R. B. Woodward らによりペニシリン (1) とセファロスポリン (2) の融合骨格としてデザインされた。^{1,2)} 当初はペニシリンやセファロスポリンと同様に 6 位にアシルアミノ基を有する誘導体 (3) であったため、化学的安定性に乏しく抗菌活性を見るに至らなかった。しかし、その後発見されたクラブラン酸 (4) をモデルにして、6 位無置換ペネム誘導体 (5) が合成された。³⁻⁵⁾ 6 位無置換ペネムは抗菌活性を示したが、 β -ラクタマーゼに容易に加水分解されることもわかった。このような β -ラクタマーゼに対する不安定性は、天然から得られたカルバペネム (チエナマ

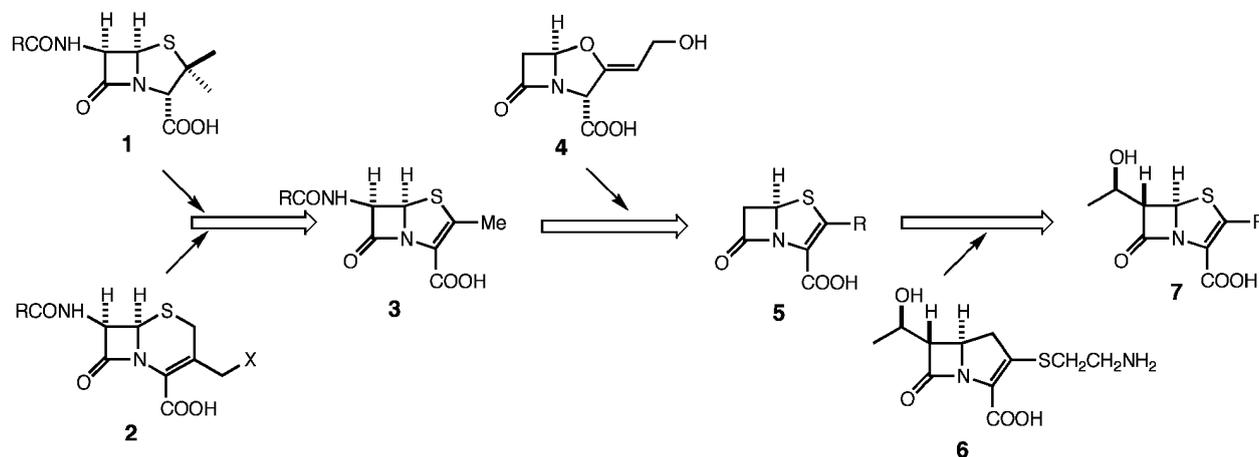


Fig. 1. The History of Design of Penem Derivatives

イシン) (6) の6位のヒドロキシエチル基を、ペネムの6位に導入することにより解決され,^{6,7)} ついで、2位の側鎖を選択することにより望む抗菌活性と経口吸収活性が得られるものと期待された (Fig. 1)。

1980年前半には2位にセファロスポリンの側鎖を導入した FCE22101 が有効な抗菌活性を示すペネム誘導体としてデザインされた。しかし、この誘導体は有効な経口吸収活性を示さないことから、そのプロドラッグ FCE22891 が開発の候補となっていた。⁸⁾ 一方、チエナマイシンの2位側鎖アナログとしてエチルチオ基を導入した SCH29482 では良好な経口吸収性が見出されていたが、代謝物としてエタンチオールが生成したため、代替物が求められていた。⁹⁾

ペネム誘導体 (7) はペニシリンやセファロスポリンより反応性が高く、異なった骨格であることから、特徴的な抗菌作用を示すことが期待された。また、ペネム誘導体は β -ラクタマーゼと反応して安定なアシル酵素を形成するために、 β -ラクタマーゼを産生する耐性菌に対しても有効であろうと推測された。さらに、ペニシリンやセファロスポリンよりコンパクトな構造、すなわち、基本骨格そのものが強い抗菌力を示すので、経口吸収性を意図して種々の2位側鎖のデザインが展開できる可能性があった。

2. ファロペネムのデザイン

β -ラクタム剤は、細菌の細胞壁合成における最終段階となるペプチドグリカンの架橋ステップを阻害する。この架橋を生成する酵素はペニシリン結合

性蛋白質 (Penicillin-binding Proteins: PBPs) と呼ばれる。ペプチドグリカンのペプチド C 末端には D-Ala-D-Ala の配列が存在し、PBPs はこれを特異的に認識してペプチド結合転移反応 (Transpeptidation) を触媒する。1980年後半までは PBPs 又はその関連酵素の立体構造は明らかでなかったが、その特異的基質認識という点から酵素反応部位が不斉的な環境であることが容易に予想された。したがって、ペネムの2位側鎖に不斉な置換基を導入した場合に、酵素結合部位によりよく適合する構造があるものと考えた。一方、経口剤のデザインの面では、複雑な構造の側鎖は合成的な困難を伴う場合が多いため、できるだけ単純な構造で経口吸収性を示す誘導体のデザインを目指した。以上のような観点から、メトキシメチル、アセトキシメチルなどのメチレン基のメチル化によって不斉を導入し、かつ疎水的性質を増すことにより経口吸収活性の発現を期待した (Fig. 2)。しかし、予想に反して、メチル化誘導体 (9, 10, 12, 13) はそれらの無置換体 (8, 11) に比べて活性が大きく低下した (Table 1)。これは、メチル基の導入によって、PBP への結合に本来必要な、2位側鎖のコンフォメーションが妨げられたものと考えられた。

そこで、メトキシメチル及びアセトキシメチル基がとり得るコンフォメーションのなかで、メチル基導入で制限を受ける領域を解析した。Fig. 3 はメトキシメチル基誘導体 (8) 及びそのメチル化体 (9, 10) の2位側鎖のコンフォメーションのエネルギーマップを示したもので、これらから明らかなるよう

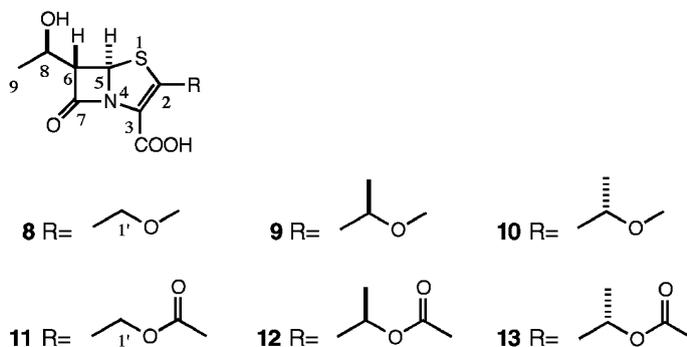


Fig. 2. Penem Derivatives with the Methyl Group at C1' Position

Table 1. *In Vitro* Antibacterial Activity (MIC, $\mu\text{g/ml}$)^{a)} of Penem Derivatives

Organisms	Compound no.															
	8	9	10	11	12	13	14 ^{d)}	15	16	17	18	19	20	21	22	23
S. a. ^{b)}	0.1	0.78	0.78	0.39	3.13	3.13	0.05	0.05	0.1	0.1	0.05	0.2	0.1	0.1	0.39	0.2
E. c. ^{c)}	0.78	25	25	6.25	>50	50	0.78	6.25	6.25	>50	1.56	12.5	1.56	0.78	25	3.13
E. c. ^{d)}	3.13	>50	>50	50	>50	>50	0.2	12.5	25	>50	3.13	25	0.39	0.39	25	12.5 ^{e)}

a) Minimum inhibitory concentration was determined in heart infusion agar medium. Inoculum size: 10^6 cells/ml. Incubation: 24 h at 37°C . b) *Staphylococcus aureus* 209P JC-1. c) *Escherichia coli* NIHJ JC-2. d) *Enterobacter cloacae* 963. e) *Enterobacter cloacae* NCTC 9394. f) faropenem.

に、メトキシメチル基のメチル基と、新たに導入したメチル基が *eclipse* になるコンフォメーションが制限されることがわかった。ふたつのメチル基が *eclipse* となるコンフォメーションをとらせるには環状構造¹⁰⁾とすることが最もよいと考えられ、かつさらなるメチレン基の導入によって化合物全体の疎水性が増加するために、抗菌活性と共に経口吸収活性を示すことについても期待した (Fig. 4)。

環状側鎖を有するペネム誘導体は予想したとおり高い抗菌活性を示し、かつ *R* 配置をもつジアステレオマーがより高い活性を示した (Table 1)。環状側鎖のなかでは5員環のテトラヒドロフラン環化合物 (14) が6員環の化合物 (16) より高い活性を示した。しかし、ジオキササン環 (18) とすると活性は上昇することから、ジオキササン環の酸素原子も活性に重要な役割を果たすものと予想された。^{11,12)} 事実、ジオキササン環の酸素に対応する位置に酸素原子を持つと予測された3-テトラヒドロフリルメチル基をもつ化合物 (20 及び 21) は同様な高い活性を示した (Table 1)。また、これらの誘導体の中でテトラヒドロフラン誘導体 (14) は経口投与による良好な抗菌活性を示した。^{13,14)}

3. ファロペネムの結晶構造—S—O 相互作用による2位側鎖のコンフォメーションの固定

ファロペネム (Fig. 5) はファロペネム 2 分子と水 5 分子のユニットからなる結晶構造 (Fig. 6) を持つ。5 個の水分子はファロペネム 2 分子のカルボキシル基、 β -ラクタムカルボニル及び水酸基が形成する親水的な領域にはさまれて存在する。一方、ファロペネムのイオウ原子、テトラヒドロフラン基のメチレン基及びヒドロキシエチル基のメチル基が形成する疎水性領域でファロペネム 2 分子が接触する構造を形成していた。¹⁵⁾ この両親媒的構造はこの化合物に特徴的であり、その経口吸収性との関連も予想される。

ファロペネム分子の結晶構造にはさらに興味ある分子内原子間相互作用が見出される。すなわち、テトラヒドロフラン環の酸素原子とペネム環のイオウ原子の間の距離が予想される距離 (3.3 Å) より異常に短いことである。関連する誘導体においても Fig. 7 に示すように短い S—O 原子間距離 (2.8–3.0 Å) が観測された。ファロペネムのジアステレオマー (24) においても S—O 相互作用により、2 位側鎖のコンフォメーションが固定され、テトラヒドロフラン環の酸素原子及びメチレン部がファロペネ

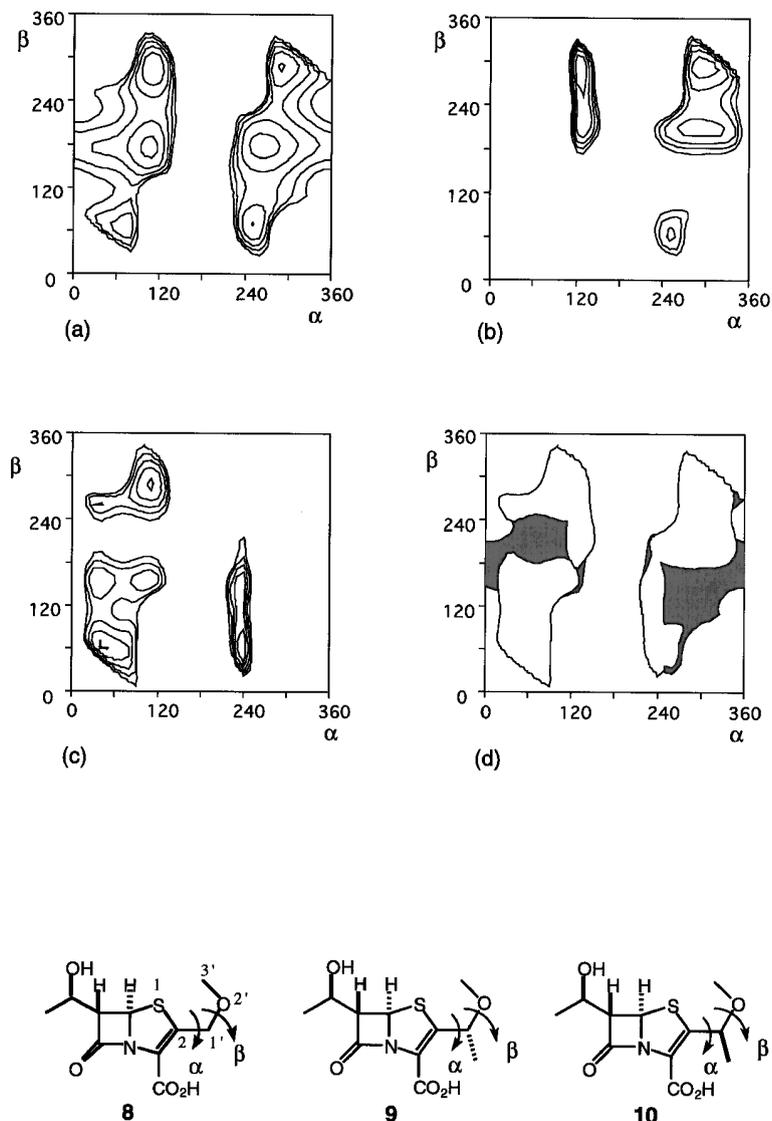


Fig. 3. Contour Map of the Conformational Energy for the C2 Side-Chain

(a): compound **8**, (b): compound **9**, (c): compound **10**, (d) the area combined with (a), (b) and (c). α : torsion angle for S1-C2-C1'-O2', β : for C2-C1'-O2'-C3'. The contours represent 1 kcal mol⁻¹ increments. The grey region in (d) shows the conformationally restrained area due to the introduction of the methyl group on the C1'.

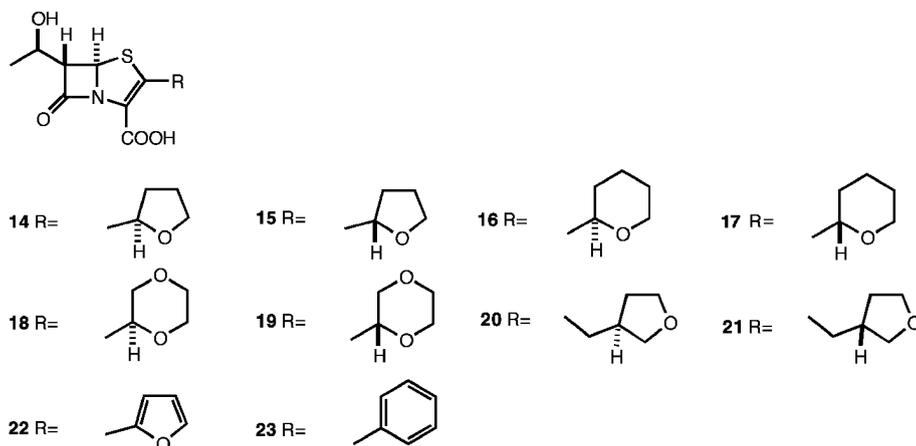


Fig. 4. Penem Derivatives with the Ring Structure at the C2 Position

ムとは全く異なる空間配置をとる。また、フラン環誘導体 (25) では平面的なフラン環がペネム環の 5 員環と全く同一の平面上に配置されたコンフォメーションをとり、ファロペネムとは全く異なる空間配置を占めることがわかる。一方、2 位にフェニル基

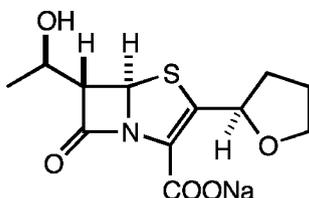


Fig. 5. The Structure of Faropenem (Sodium Salt of 14)

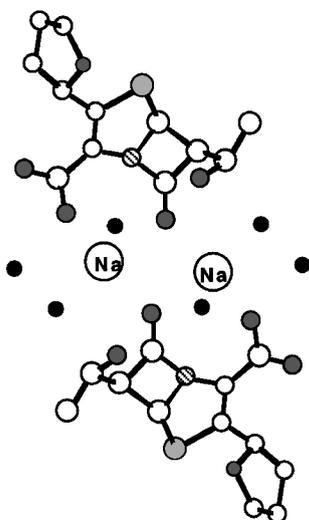


Fig. 6. Perspective View of the Crystal Packing for Faropenem (Ball and Stick Model)

netted balls: oxygen, hatched balls: nitrogen, small white balls: carbon, dotted balls: sulfur, large white balls: sodium, stuffed balls: water oxygen. Hydrogen atoms are omitted for clarity.

を持つ化合物 (23 のアリルエステル) ではフェニル基がペネム環の 5 員環と約 -50° の傾きを持ち、ファロペネムのメチレン基と同様な空間配置を占める炭素原子が存在するため、フラン環誘導体 (22) に比較して、フェニル環誘導体 (23) は活性が高いことが理解される (Table 1). 以上の相関から、活性発現のためにはメチレン基の空間配置と 1 位イオウ原子と相互作用する酸素原子の不对電子の向きが重要であると結論された.¹⁶⁾

メトキシメチル誘導体の結晶構造でも短い S-O 原子間距離が観測されることから、S-O 相互作用はペネム誘導体において一般的であると結論できる。そこで、メトキシメチル基の結晶構造に、メチル基を導入した側鎖の構造についてみると、導入したメチル基は明らかにメトキシ基のメチル基と立体的反発を生じる。この立体的反発を避けるためには Fig. 8 に示すような C-O 結合の回転が必要である。この回転によって S-O 相互作用が弱くなるコンフォメーションとなるものと予想される。このようにして、活性発現のために必要なコンフォメーションが取れなくなることが、活性低下の大きな原因となっていると考えられる。

ペネム誘導体の結晶構造に見られる S-O 相互作用は酸素原子とイオウ原子が近接できる関係にある場合に一般的に見出される相互作用であり、イオウ原子がスルフォキンドとなっている場合にも見出される。¹⁷⁾ また、Franchetti らが報告した¹⁸⁾ 2-thiophenylfuranose 誘導体や、結晶構造解析データ (CSD) 中にも数多く S-O 相互作用が見出される。また、長尾らも S-O 相互作用について系統的な研究を報告している。¹⁹⁾

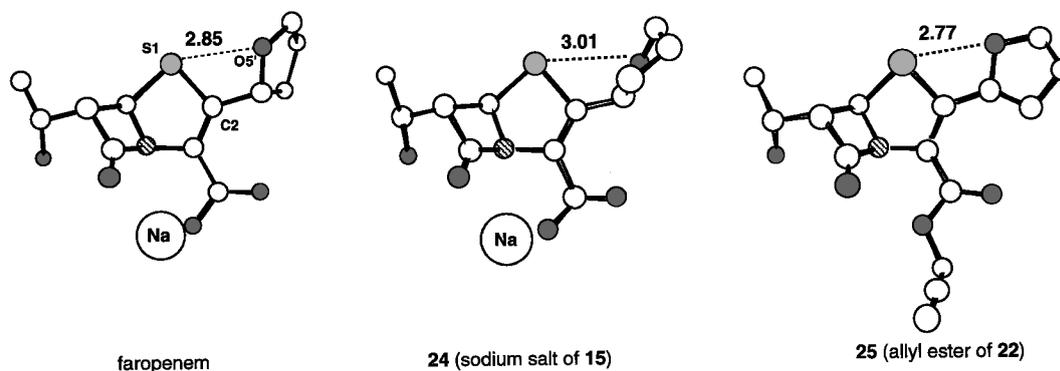


Fig. 7. Perspective View of the Crystal Structures for Penem Derivatives (Ball and Stick Model)

netted balls: oxygen, hatched balls: nitrogen, small white balls: carbon, dotted balls: sulfur, large white balls: sodium. Hydrogen atoms are omitted for clarity.

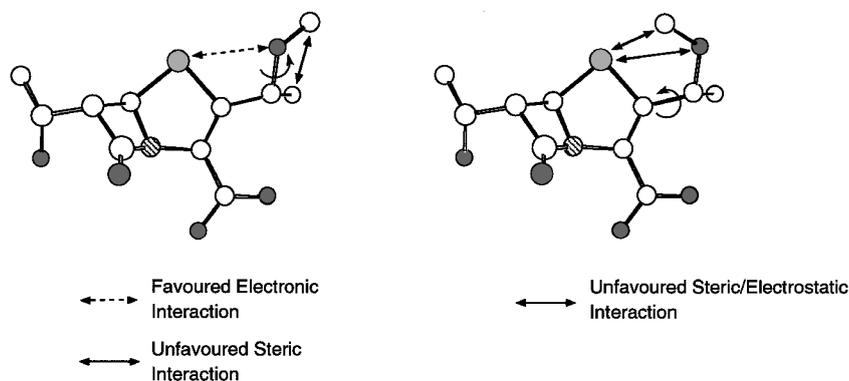


Fig. 8. Favoured and Unfavoured Interactions Caused by the Methyl Group at the C1' Position
 netted balls: oxygen, hatched balls: nitrogen, small white balls: carbon, dotted balls: sulfur. Hydrogen atoms are omitted for clarity.

4. PBP2 の立体構造モデルとファロペネムの認識

ファロペネムは大腸菌の PBP の中で特に PBP2 に強い親和性を示す (Table 2). ヒドロキシエチル基を有するカルバペネム抗生物質においても同様の親和性が見られることから, これらの化合物に共通するヒドロキシエチル基がその親和性に対する重要な官能基であると推測される.

立体構造が解明されている *Streptococcus pneumoniae*²⁰⁾ の PBP2x とのアミノ酸配列の相同性をもとに大腸菌の PBP2 の立体構造モデルを作成した (Fig. 9). PBP2x と PBP2 の反応部位におけるアミノ酸残基はほとんど保存されており, さらにクラス A²¹⁾ に分類される β -ラクタマーゼの反応部位とも非常に類似しており, β -ラクタム剤がこれらの酵素と反応してアシル酵素を生成する機構も同様であると推測される.

ファロペネムのヒドロキシエチル基は分子力学計算から, 3 種の安定な *Gauche* のコンフォメーションをとることが示された. このうち 2 つのコンフォメーションはペネム誘導体の結晶構造にも見出される.¹⁶⁾ そこで, ファロペネムのテトラヒドロフラン環部を固定して PBP2 の構造にドッキングするとヒドロキシエチル基は上の 2 つのコンフォメーションにおいて, PBP2 に特異的なアミノ酸残基である Asp299 又は Tyr444 との水素結合を形成する可能性が示された. 一方, β -ラクタマーゼにおいてはペニシリンやセファロスポリンの 6 位又は 7 位のアシルカルボニルは PBP2 の Asp299 に対応する Asn132 との水素結合により認識される.²²⁾ しかし,

Table 2. Affinity of Faropenem for PBPs of *Escherichia coli* NIHJ JC-2

	PBPs						
	1A	1Bs	2	3	4	5	6
ID ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}	0.3	7.5	<0.1	17.8	0.2	2.3	19.7

a) Values indicate the concentration of faropenem required to reduce [¹⁴C]benzylpenicillin binding by 50%.

Asp299 を Asn 又は Ala に変換した PBP2 変異株を作製したところ, 両変異株に対する結合活性は全く変化せず, Asp299 はヒドロキシエチル基の認識には関与しないという結果が得られたことから,²³⁾ ヒドロキシエチル基の認識には PBP2 に特異的な残基である Tyr444 が重要な役割をしているものと考えている (Fig. 10).

Toho-1 は基質拡張型 β -ラクタマーゼ (Extended Spectrum β -Lactamases: ESBL) として知られ, セフォタキシムなどかさ高い 7 位アシルアミノ基を認識する.²⁴⁾ かさ高いアシルアミノ基の認識に Asn132 が関与することは立体的に不可能であり,²⁵⁾ Toho-1 において特異的に変異した Asn104 が Asn132 の代わりの役割を果たしてアシルアミドのカルボニルを認識する. Toho-1 と PBP2 の活性部位を重ね合わせると Asn104 の側鎖が PBP2 の Tyr367 の主鎖のアミドに対応することから, ペニシリンやセファロスポリンの 6 位又は 7 位のアシルカルボニルは, PBP2 の Tyr367 の主鎖により認識されるものと推測される. また, この認識の違いが PBP2 と他の PBPs との機能的差異をもたらしていると結論される.

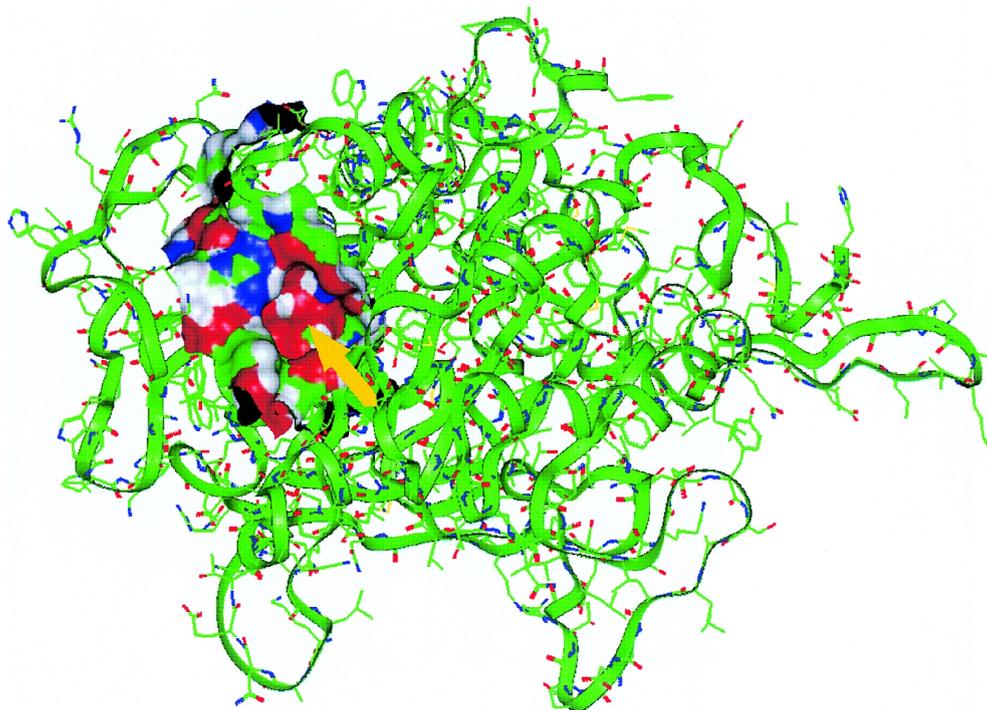


Fig. 9. The Model in the β -Lactam Binding Domain of PBP2 of *Escherichia coli*

The molecular surface of the binding site (indicated by a yellow arrow) is colored according to electrostatic potential. red: negative, blue: positive, white: neutral. The main chain is traced by green ribbon.

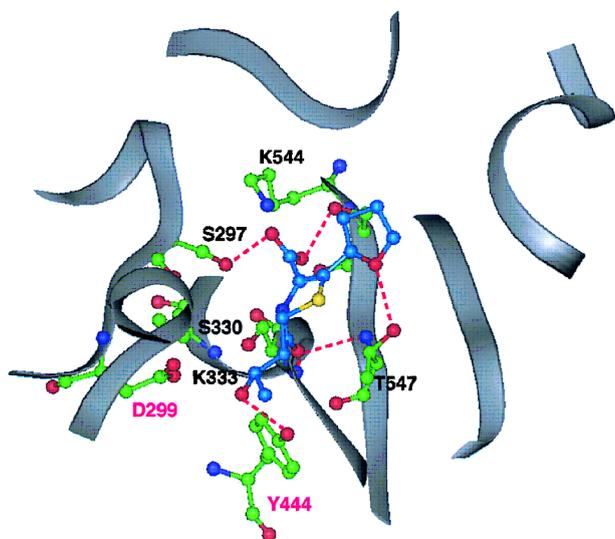


Fig. 10. Faropenem at the β -Lactam Binding Site of the PBP2 Model

The main chain is traced by grey ribbon. The important residues and faropenem are shown by ball and stick model. Amino acid residues, dark blue: nitrogen, red: oxygen, green: carbon. Faropenem, dark blue: nitrogen, red: oxygen, yellow: sulfur, bright blue: carbon. The hydrogen bonds are shown by the red broken lines. The amino acid residues are indicated by one-letter code with the residue numbers (black: conserved residues in PBPs, magenta: specific residues in PBP2).

5. ファロペネムと β -ラクタマーゼとの相互作用

β -ラクタマーゼは β -ラクタム剤と反応してアシル酵素を生成し、さらにアシル化によって生成した β -ラクタマーゼの活性セリン残基とのエステル結合を加水分解することによって、 β -ラクタム環を加水分解する (Fig. 11).

ファロペネムは β -ラクタマーゼと容易に反応してアシル酵素を形成する。しかし、このアシル酵素のエステル結合は容易に加水分解されず、アシル酵素として安定に存在する。²⁶⁾ その結果、ファロペネムは β -ラクタマーゼに対する自殺基質となる。すなわち、ファロペネムは PBP の阻害剤であると共に、 β -ラクタマーゼ阻害剤でもあるという特徴的な性質を持つ。

一般に、ペニシリンやセファロスポリンにおいては、PBP に対する親和性を保持し、 β -ラクタマーゼには親和性が低い誘導体が、新しい世代の誘導体 (例えばメチシリンやセフォタキシムなど) としてデザインされてきた。しかし、最近になってこのような新しい世代のセファロスポリンに対しても親和性を獲得して、容易にこれらを加水分解する ESBL

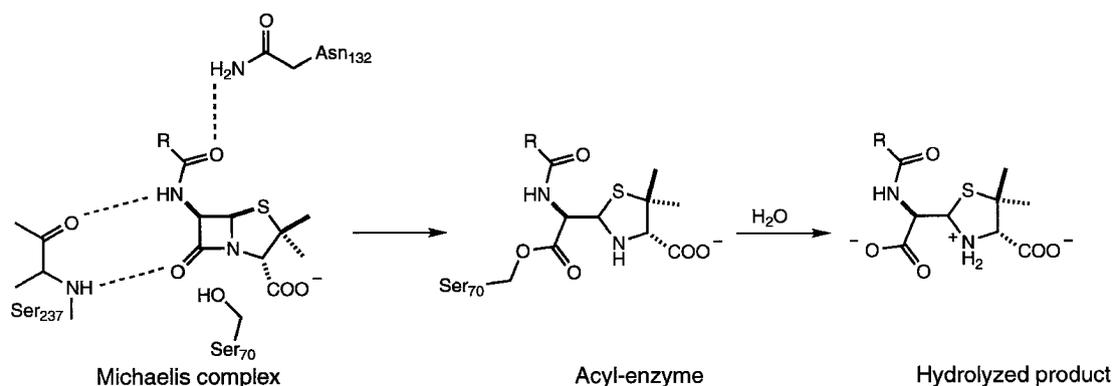


Fig. 11. Mechanism of Hydrolysis of Penicillins by Class A β -Lactamases

Table 3. *In vitro* Antibacterial Activity (MIC, $\mu\text{g/ml}$) of β -Lactam Antibiotics against Organisms Producing TOHO-1 β -Lactamase

Organisms	Antibiotics												
	ABPC	CBPC	PIPC	CET	CFX	CZX	CTX	CAZ	CZON	LMOX	FMOX	AZT	FRM
<i>E. coli</i> ^{a)}	512	>512	256	>512	1	32	>512	8	512	≤ 0.25	32	≤ 0.25	1
<i>E. coli</i> ^{b)}	512	>512	256	>512	1	32	>512	4	>512	≤ 0.25	32	≤ 0.25	1
<i>E. coli</i> ^{c)}	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	0.5	≤ 0.25	0.125	≤ 0.25	≤ 0.25					

ABPC: ampicillin, CBPC: carbenicillin, PIPC: piperacillin, CET: cephalotin, CFX: cefoxitin, CZX: ceftizoxime, CTX: cefotaxime, CAZ: ceftazidime, CZON: cefuzonam, LMOX: latamoxef, FMOX: flomoxef, AZT: aztreonam, FRM: faropenem.

a) *Escherichia coli* TUH12191, clinical isolate. b) *E. coli* ML4903 (pMTY001), bearing TOHO-1 gene. c) *E. coli* ML4903, recipient.

が出現するに至っている。ファロペネムはこれらの ESBL に対しても親和性を示し、生成するアシル酵素が安定であることから ESBL 産生菌に対しても有効な抗菌活性を示す。Table 3 には ESBL の 1 つである Toho-1 産生菌に対する各種 β -ラクタム剤の抗菌活性を示した。

ファロペネムのヒドロキシエチル基は PBP2 と相互作用するのと同様のコンフォメーションで β -ラクタマーゼと相互作用するものと考えられる。このようなコンフォメーションでは、 β -ラクタマーゼ (クラス A) の加水分解反応における脱アシル化反応に必須な Glu166 と強く水素結合して、酵素活性に重要な役割を果たす水分子が、^{27,28)} ヒドロキシエチル基の水酸基と水素結合する部位になると推測される (Fig. 12)。^{29,30)} この水分子と Glu166 はすべてのクラス A β -ラクタマーゼに存在するため、ヒドロキシエチル基は ESBL で生じている他のアミノ酸残基の変異には影響されず、 β -ラクタマーゼを認識できるものと考えられる。

6. アセトキシアゼチジノンの合成

ペネム及びカルバペネムの製造にはその合成中間

体としてアセトキシアゼチジノン誘導体 (33) の合成法の開発が重要な課題である。既にアセトキシアゼチジノン誘導体はペニシリンより誘導され、ペネム誘導体合成に有用であることが示されていた。しかし、ペニシリンからの合成は多段階を要し、かつ低温での反応条件を必須とした反応を必要とすることから実用的に用いるには困難であった。

我々はペニシリンからの半合成法ではなく、 β -ラクタム環合成を含む全合成法による合成工程の開発を目的とした合成経路の開発に取り組んだ。 β -ラクタム環の合成法は多く報告されているが、我々はヒドロキシエチル基の不斉を利用して 2+2 付加反応による β -ラクタム環の合成を検討した。

出発原料として光学活性 3-ヒドロキシブタン酸エステル (26) 又は 1,3-ブタンジオール (27) を選んで光学活性ビニルスルフィド体 (30) の合成を行った。まず、ブタンジオールの 1 位水酸基をトシレート (28) とし、これにフェニルチオレートを反応してフェニルチオエーテル (29) とした。ついで、二級アルコールを *tert*-ブチルジメチルシリル (TBS) 化した後、N-クロロスクシンイミドを用い

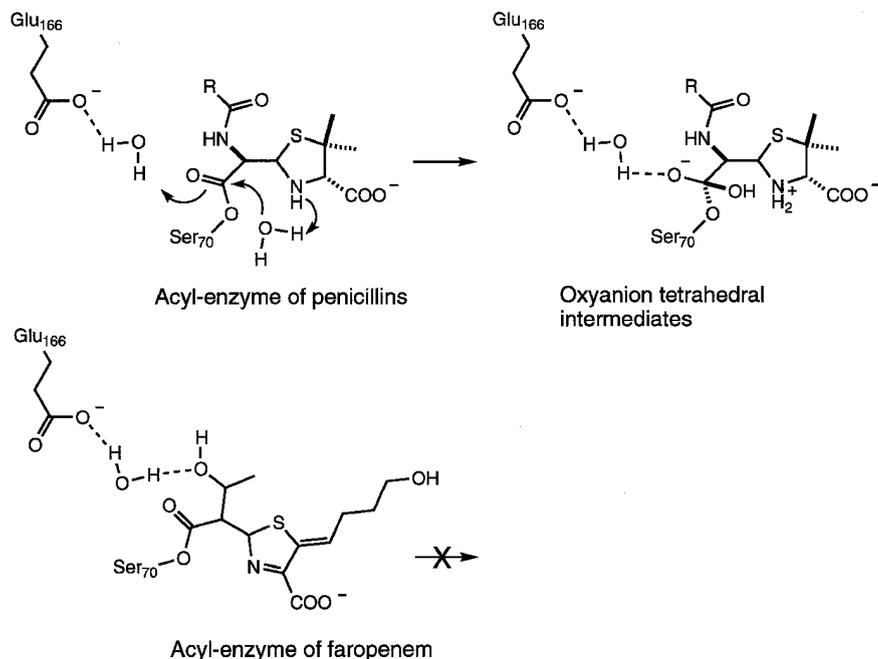
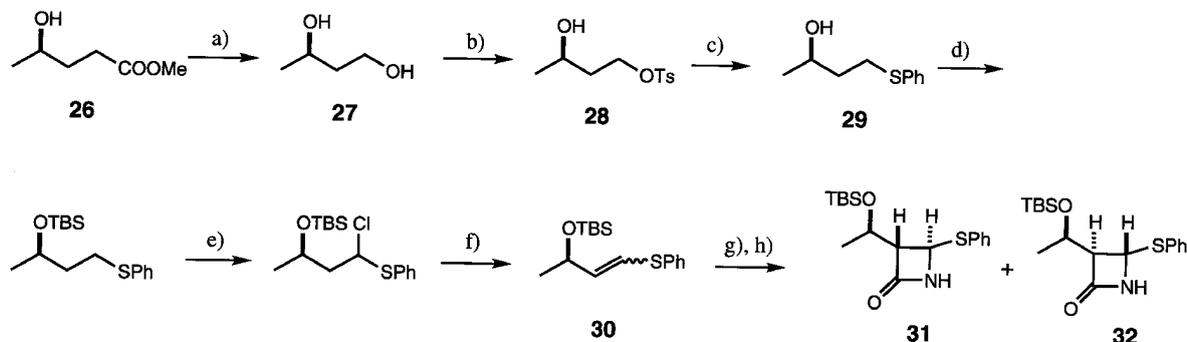


Fig. 12. Distinct Interactions of the Water Molecule with the Acyl Moieties of the Acyl Enzymes
Hydrogen bonds are shown by broken lines.



Scheme 1. Synthesis of the Optically Active Phenylthio-Azetidinones^{a)}

^{a)} Reagents: a) Lithium aluminium hydride, ether, b) tosyl chloride, 2,6-lutidine, c) sodium phenylthiolate, THF, d) *t*-butyldimethylsilyl chloride, triethylamine, 4-dimethylaminopyridine, DMF, e) *N*-chlorosuccinimide, CCl₄, f) Li₂CO₃, LiClO₄, LiI, DMF, g) CSI, ether, h) thiophenol, pyridine.

て1位をクロル化し、精製することなく炭酸リチウムで脱塩酸化しビニルスルフィド体 (**30**) とした。このときビニルスルフィド体はトランス・シス比が約3の混合物として得られた (Scheme 1)。

トランス体及びシス体についてそれぞれ CSI (chlorosulfonyl isocyanate) との反応を検討した。この反応は使用する反応溶媒によってジアステレオ選択性が変化することが特徴的で、また、ビニルスルフィド体のフェニル基の置換基によって反応が異なることもわかった。トランス体についてクロロホルム又はジクロロメタン中で反応を行うと、主生

成物は目的とする立体配置とは異なるジアステレオマー (**32**) であった。一方、反応をエーテル又はヘキサン中で行うと、目的化合物が主生成物として得られた (Table 4).³¹⁾ この反応を置換フェニルビニルスルフィドについて同様に検討したところ、*p*-クロル体では同様の結果が得られたが、*p*-メチル体及び *p*-フルオロ体では全く β -ラクタム環を持つ誘導体を得られなかった。平井らは CSI とビニルスルフィドとの反応で *p*-クロル又は *p*-メチル置換フェニル-1-プロペニルスルフィドでは β -ラクタム環が得られるのに対し、無置換フェニル-1-プロペ

ニルスルフィドでは β -ラクタム環が得られないことを報告しており,³²⁾ この反応はフェニル環上の置換基に影響されることが大きな特徴である。

ビニルスルフィド (30) と CSI の環化反応は室温付近で反応収率及び立体選択性が最もよく進行する。反応溶媒によってジアステレオマーの生成比の逆転が起こる理由としては、トランス体の反応ではヘキサン中においては CSI が多量体を形成してかさ高い試薬として作用し、ジクロロメタン中では単量体として反応が生じると仮定すると、Felkin 様反応遷移状態において、Fig. 13 に示すような相違が生じるためであろうと推測している。すなわち、ヘキサン中ではかさ高くなった試薬が攻撃する中間体 (I)、ジクロロメタン中ではシリルエーテル酸素に試薬が配位して反応する中間体 (II) の状態を優先的に経由して反応が進行すると考えられる。ヘキサン中では得られたアゼチジノン誘導体のうち、副生成物である 3R4S 体 (32) は石油エーテルなどの非極性溶媒に容易に溶けるため、反応粗生成物を少量の

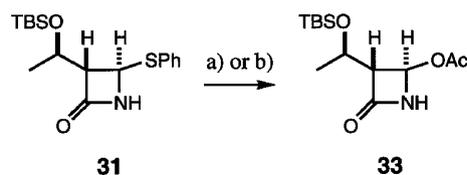
石油エーテルで洗浄すると、高純度の目的物 (31) が結晶として得られた。

フェニルチオアゼチジノン誘導体 (31) からアセトキシアゼチジノン誘導体 (33) への変換については、酢酸水銀を用いる方法が知られていたが、水銀化合物は毒性が高く、この方法は工業的には利用できないものであった。この変換反応について検討した結果、1 価又は 2 価の銅試薬を用いることによって、いずれも目的とするアセトキシアゼチジノン誘導体を定量的に得られることが明らかになった (Scheme 2)。^{31,33)} 酢酸銅 (II) の場合は酢酸中 100°C で 45 分間加熱でアセトキシアゼチジノン誘導体 (33) が得られた。また、*in situ* で臭化銅 (I)-ジメチルスルフィド複合体と酢酸ナトリウムから調製した銅 (I) 試薬の場合は、室温で 1.5 時間という緩和な条件で反応が進行した。銅イオンはイオウ原子と高い親和性を有するので、アセテートイオンとフェニルチオレートイオンの交換反応が円滑に進行し、特に 1 価の銅試薬は酢酸銅 (II) に比べてさらに反応性が高く、室温で進行するため副生物のジフェニルジスルフィドが副成しないことから有用な試薬とな

Table 4. Ratio and Yield of Phenylthioazetidinone in Various Solvents

Solvent	<i>trans</i> -isomer of 30		<i>cis</i> -isomer of 30	
	31/32	Yield (%) ^{a)}	31/32	Yield (%) ^{a)}
CH ₂ Cl ₂	2.46	17	0.33	46
CHCl ₃	—	0	0.69	38
Ether	2.17	61	1.00	65
Isopropylether	2.55	65	1.27	46
Hexane	4.33	39	2.06	35
Toluene	2.74	37	1.00	53

a) Isolated yield after removal of chlorosulfonyl group.



Scheme 2. Conversion of the Phenylthio Group to the Acetoxy Group^{a)}

^{a)} Reagents: a) Cu(OAc)₂, AcOH or b) CuBr-dimethylsulfoxide, NaOAc, THF.

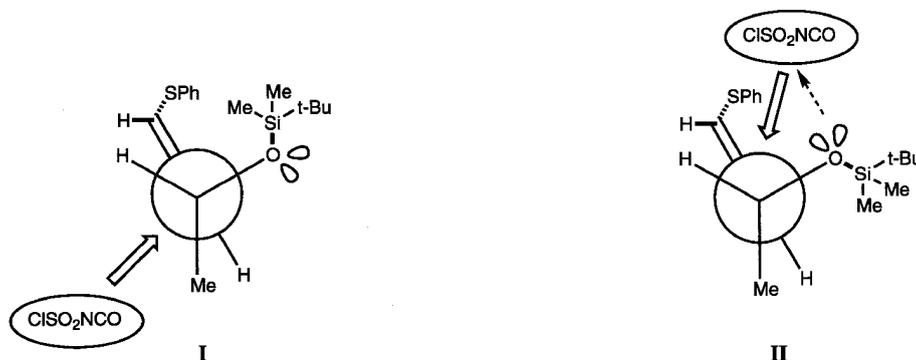


Fig. 13. Mechanism of the Stereoselectivity on the 2+2 Cycloaddition Reaction

The open thick arrows indicate the direction of the attack of the reagent and the broken arrow indicates the direction of the coordination of the oxygen lone pair.

った。

7. ファロペネムの合成

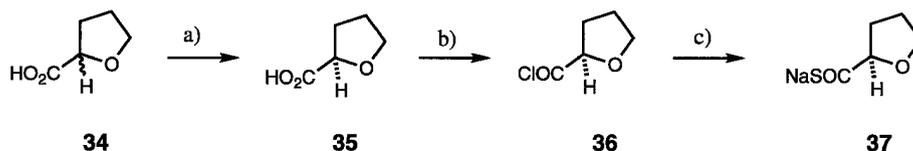
アセトキシアゼチジノン誘導体 (**33**) の4位アセトキシ基は容易に S_N1 反応により置換されるため、アシルチオレート (**37**) を用いることにより、チオエステル誘導体とすることができる。そこで、Scheme 3 に示す工程で、光学活性アシルチオレート (**37**) を合成した。(±)2-テトラヒドロフランカルボン酸 (**34**) の (*S*)-(−)-1-フェニルエチルアミン塩を、1,2-ジクロロエタンなどの塩素系溶媒を用いて光学分割を行うと、非常に効率よく目的とする (*R*)-2-テトラヒドロフランカルボン酸 (**35**) が得られることを見出した。このカルボン酸を酸クロリド (**36**) とした後、NaSH を作用させるとアシルチオレート (**37**) が収率良く調製できた。ついで、これを用いてアセトキシアゼチジノン誘導体 (**33**) と反応させ、チオエステル体 (**38**) とした。さらにこのチオエステル体にシュウ酸クロリド誘導体を作作用させて、オキサメート誘導体 (**39**) とした後、2当量のトリエチルフォスファイトを、70°で反応させるとイリド体 (**40**) が得られた。さらに、このイリド体をキシレン中で加熱還流すると速やかに閉環

してペネム環を生成した。これら一連の反応は効率よく進行し、チオエステル誘導体 (**38**) から80%以上の収率でペネム誘導体 (**41**) が得られた。ついでテトラブチルアンモニウムフルオライドを用いてシリル基を除去し、さらにカルボン酸の保護基をパラジウム触媒を用いて除去することにより、最終目的化合物であるファロペネム (ファロム[®]) を結晶として得ることができた (Scheme 4)。¹¹⁾

結語

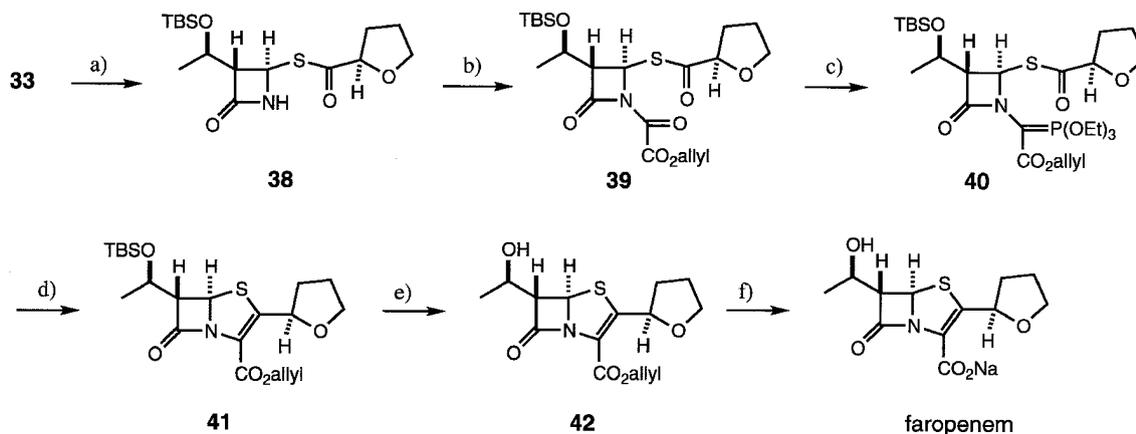
ファロムは従来の経口β-ラクタム薬では十分な効果の及ばなかったペニシリン耐性肺炎球菌をはじめとするグラム陽性菌、高度β-ラクタマーゼ産生菌であるシトロバクター属、エンテロバクター属、並びに基質拡張型ペニシリナーゼ (ESBL) 産生菌、あるいは嫌気性菌に対して良好な抗菌力と殺菌力を示す。従来のセフェム薬を中心とする経口β-ラクタム薬では十分効果が及ばなかったこれら耐性菌による感染症に対して、ファロムは軽症から中等症あるいは回復期にある再燃防止のための経口抗生物質として有効性を示している。

ファロムの特異的な経口吸収性にはテトラヒドロフラン構造の寄与が大きく、他の関連する構造を持



Scheme 3. Synthesis of Thiocarboxylic Acid^{a)}

^{a)} Reagents: a) (*S*)-(−)-1-phenylethylamine, 1,2-dichloroethane, b) oxalyl chloride, c) sodium hydrosulfide.



Scheme 4. Synthesis of Faropenem from Acetoxyazetidione^{a)}

^{a)} Reagents: a) acetone-H₂O, pH 9, b) monoallyl oxalyl chloride, triethyl amine, dichloromethane, c) triethylphosphite, d) xylene, e) nBu₄NF, AcOH, THF, f) Pd(PPh₃)₄, PPh₃, sodium 2-ethylhexanoate, dichloromethane.

つペネムではファロムほどには有効な経口吸収性を示さなかった。そして、ファロムはヒト成人における薬物動態においても経口投与時十分な血中及び尿中濃度を示し、同時にファロムの高い安全性は動物実験における各種毒性試験において確認された。さらに、各科領域の感染症に対して80%以上の良好な有効性を示した。

ファロムはその構造の新規性、用いたドラッグデザイン手法と標的酵素への作用メカニズムの解析、さらに光学活性医薬品としての全合成製造法そして感染症における効果など、ファロム以前の経口 β -ラクタム薬とは全く異なるプロファイルを持った経口抗菌薬として世界に先駆けて創製されたものであり、今後の感染症領域における研究・臨床応用に貢献するものと期待している。

謝辞 ファロムの研究開発はサントリー株式会社医薬事業部の各研究所をはじめとする多くの方々の努力と協力により達成された成果であり、心より感謝致します。また、ファロムの開発を共同して行った日本曹達株式会社及び山之内製薬株式会社の方々、そして社外共同研究機関の研究者の皆様に深謝致します。

REFERENCES

- 1) Woodward R. B., "Recent Advances in the Chemistry of β -Lactam Antibiotics," ed. by Elks J., The Chemical Society, London, 1977, Vol. Spec. Publ. No. 28, pp. 167-180.
- 2) Ernest I., Gosteli J., Greengrass C. W., Holick W., Pfaendler H. R., Woodward R. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 8214-8222 (1978).
- 3) Lang M., Prasad K., Holick W., Gosteli J., Ernest I., Woodward R. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 6296-6301 (1979).
- 4) Ernest I., Gosteli J., Woodward R. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 6301-6305 (1979).
- 5) Pfaendler H. R., Gosteli J., Woodward R. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 6306-6310 (1979).
- 6) Pfaendler H. R., Gosteli J., Woodward R. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 2039-2043 (1980).
- 7) Ernest I., "Chemistry and Biology of β -Lactam Antibiotics. Non Traditional β -Lactam Antibiotics," ed. by Morin R. B., Gorman M., Academic Press, New York, 1982, Vol. 2, pp. 315-360.
- 8) Franceschi G., Perrone E., Alpegiani M., Bedeschi A., Battistini C., Zarini F., Della Bruna C., *J. Antimicrob. Chemother.*, **23 Suppl C**, 1-6 (1989).
- 9) McCombie S. W., Ganguly A. K., *Med. Res. Rev.*, **8**, 393-440 (1988).
- 10) Bando S., Takano T., Tanaka R., Iwata H., Ishiguro M., *Acta Cryst.*, **C46**, 106-108 (1990).
- 11) Ishiguro M., Iwata H., Nakatsuka T., Tanaka R., Maeda Y., Nishihara T., Noguchi T., Nishino T., *J. Antibiotics*, **41**, 1685-1693 (1988).
- 12) Tanaka R., *Gifu Yakka Daigaku Kiyō*, **45**, 31-47 (1996).
- 13) Nishino T., Maeda Y., Nishihara T., Ishiguro M., Abstracts of papers, the 26th Intersci. Conf. on Antimicrob. Agents Chemother., New Orleans, 1986, p. 329.
- 14) Nishino T., Maeda Y., Ohtsu E., Koizuka S., Nishihara T., Adachi H., Okamoto K., Ishiguro M., *J. Antibiotics*, **42**, 977-988 (1989).
- 15) Oyama Y., Imajo S., Tanaka R., Ishiguro M., *Acta Cryst.*, **C50**, 1254-1256 (1994).
- 16) Tanaka R., Oyama Y., Imajo S., Matsuki S., Ishiguro M., *Bioorg. Med. Chem.*, **5**, 1389-1399 (1997).
- 17) Tanaka R., Oyama Y., Ishiguro M., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 853-854 (1990).
- 18) Franchetti P., Cappellacci L., Grifantini M., Barzi A., Nocentini G., Yang H., O'Connor A., Jayaram H. N., Carrell C., Goldstein B. M., *J. Med. Chem.*, **38**, 3829-3837 (1995).
- 19) Nagao Y., Hirata T., Goto S., Sano S., Kakehi A., Lizuka K., Shiro M., *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 3104-3110 (1998).
- 20) Pares S., Mouz N., Petillot Y., Hakenbeck R., Dideberg O., *Nat. Struct. Biol.*, **3**, 284-289 (1996).
- 21) Ambler R. P., *Philos. Trans. R. Soc. London B.*, **289**, 321-331 (1980).
- 22) Strynadka N. C. J., Adachi H., Jensen S. E., Johns K., Sielecki A., Betzel C., Sutoh K., James M. N. G., *Nature*, **359**, 700-705 (1992).
- 23) Shimamura T., Matsuzawa H., Ishiguro M., unpublished results.

- 24) Ishii Y., Ohno A., Taguchi H., Imajo S., Ishiguro M., Matsuzawa H., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **39**, 2269–2275 (1995).
- 25) Ibuka A., Taguchi A., Ishiguro M., Fushinobu S., Ishii Y., Kamitori S., Okuyama K., Yamaguchi K., Konno M., Matsuzawa H., *J. Mol. Biol.*, **285**, 2079–2087 (1999).
- 26) Adachi H., Nishihara T., Ishiguro M., unpublished results.
- 27) Ishiguro M., Imajo S., *Drug Des. Discov.*, **16**, 131–143 (1999).
- 28) Ishiguro M., Imajo S., *J. Med. Chem.*, **39**, 2207–2218 (1996).
- 29) Iwata H., Tanaka R., Ishiguro M., *J. Antibiotics*, **43**, 901–903 (1990).
- 30) Tanaka R., Namikawa K., Nakatsuka T., Adachi H., Yoshida T., Sugita O., Ishiguro M., *J. Antibiotics*, **47**, 945–948 (1994).
- 31) Nakatsuka T., Iwata H., Tanaka R., Imajo S., Ishiguro M., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 662–664 (1991).
- 32) Hirai K., Matsuda H., Kishida Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **21**, 1090–1095 (1973).
- 33) Shimamoto T., Inoue H., Yoshida T., Tanaka R., Nakatsuka T., Ishiguro M., *Tetrahedron Lett.*, **35**, 5887–5888 (1994).