



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Studies on The Novel Acyl Derivatives of Tylosin
Produced with The Microbiological Conversion
Process

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 岡本, 六郎 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2262

氏名（本籍）	岡本六郎（和歌山県）		
学位の種類	博士（農学）		
学位記番号	農博乙第17号		
学位授与年月日	平成10年3月13日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
学位論文題目	Studies on The Novel Acyl Derivatives of Tylosin Produced with The Microbiological Conversion Process		
審査委員	主査	静岡大学教授	岡部満康
	副査	信州大学教授	寄藤高光
	副査	岐阜大学教授	河合啓一
	副査	静岡大学教授	田原康孝
	副査	静岡大学助教授	朴龍洙

論文の内容の要旨

マクロライド系抗生物質はグラム陽性菌およびマイコプラズマに対し幅広い抗菌活性を示すため、人及び家畜の感染症の治療薬として世界中で使用されている。しかしながら他の抗生物質と同様、その頻繁な使用が種々のマクロライド耐性微生物の発生を引き起こし、おおきな社会問題となっている。

本研究において、著者はマクロライド耐性菌に有効な新規化合物を開発し、工業レベルでの製造プロセスを確立すると同時に新規動物医薬品の開発に成功した。

第1章で16-員環マクロライド変換能を有する微生物のスクリーニングを行っている。スクリーニングの基質として、抗生物質であるロイコマイシンの3種類の類縁体、ロイコマイシンA₁、U及びA₃を用いた。微生物の培養液にこれらの基質を添加し、一晚反応後に反応物をTLC（薄層クロマトグラフィー）で定性的に分析した。細菌、放線菌および糸状菌、合計941株をスクリーニングした結果、8種類の微生物変換反応（タイプI～タイプVIII）が存在することを発見した。この中でタイプIに属し、ロイコマイシンA₁の3-および4''-位の水酸基を種々のアシル基で修飾することが出来る*Streptomyces thermotolerans* ATCC 11416株を見出したので、本菌を用いて、タイロシンを基質と

して8種類のアシル化チロシン誘導体を調製し、その特性を検討している。

第2章では前記8種類の微生物変換物質について¹H-NMRおよび¹³C-NMRスペクトルおよび質量分析によりそれらの化学構造を決定した。その結果8種類の化合物は4"-ブチルチロシン、4"-イソバレリルチロシン、3-アセチルチロシン、3-アセチル4"-ブチリルチロシン、3-アセチル-4"-イソバレリルチロシン、3-プロピオニルチロシン、3-プロピオニル-4"-ブチルチロシンおよび3-プロピオニル-4"-イソバレリルチロシンであることが判明した。

第3章では著者は前記*Streptomyces thermotolerans* ATCC 11416がチロシンを基質として変換した8種類の3-アセチル-4"-アシルチロシン誘導体の生物活性を評価した。特にその中の一つである3-アセチル-4"-イソバレリルチロシン(AIV)がチロシン耐性株*Staphylococcus aureus* に対して強い増殖抑制効果を示す事を見出し、その薬理効果の解明を行っている。また、同時にAIVが動物の感染症の主な病原菌である*Mycoplasma gallisepticum* に対しても高い抗菌活性を示すことを明らかにした。一般に抗生物質を感染治療薬として使用する場合、胃液中での安定性が問題になるが、人口胃液中での安定性試験で、AIVが対照として用いたチロシンよりはるかに安定であることを示している。さらにマウスに対する感染治療効果を経口投与で試験しているが、チロシンでは400mg/kgの投与で5日後に40%のマウスが死亡しているのに対し、同量のAIV投与区では死亡は観察されていない。AIVの血中濃度の最高値はチロシンのその数倍高く、AIVはチロシンより明らかに高い吸収性を示した。

以上の結果に基づき、AIVは動物医薬品としての承認を取得し、現在養豚・養鶏産業におけるマイコプラズマ感染症に世界的に使用されている。

審 査 結 果 の 要 旨

平成9年8月4日14時より静岡大学農学部において、審査委員全員出席のもとで約40分間の口頭による公開論文発表の後、審査委員全員の出席のもとで本論文を審査した。なお、各審査委員は予め各自に配布された論文(写し)を発表会に先だって閲覧した。

論文要旨は、1) グラム陽性菌およびマイコプラズマに対し幅広い抗菌活性を示す8種類の新規クロライド系抗生物質の発見 2) 前記新規抗生物質群の化学的特性ならびに化学構造の決定および3) 代表的な3-アセ

チル-4"-イソバレリルタイロシン(AIV)の生物活性評価に関する研究である。

1) では16-員環マクロライド変換能を有する微生物のスクリーニングを行っている。スクリーニングの基質として、抗生物質であるロイコマイシンの3種類の類縁体、ロイコマイシンA₁, U及びA₃を用いた。細菌、放線菌および糸状菌、合計941株をスクリーニングした結果、5種類の微生物変換反応を発見し、その反応生成物として8種類の新規抗生物質を見出している。2) では¹H-NMRならびに¹³C-NMRスペクトラムおよび質量分析により前記すべての物質の化学構造を決定している。3) 前記8種類の抗生物質の中で最も抗菌活性が高かったAIVを選択し、マウスに経口で投与し、血中濃度の経時変化を追った。AIVの血中濃度の最高値は対照としたタイロシンのそれより数倍高く、またタイロシンより高い吸収性を示した。さらに*Staphylococcus aureus* Smith株で感染されたマウスに対する治療効果を経口で試験したところ400mg/kgのタイロシン投与では5日後に40%のマウスが死亡したのに対し、同量のAIV投与区では死亡が観察されなかった。

以上述べたように、本論文ではマクロライド耐性を有する新規抗生物質AIVを発見し、これをタイロシンを基質とする*Streptomyces thermotolerans*による微生物変換で効率よく生産するプロセスを開発している。さらに本物質がタイロシン耐性株で感染したマウスに対し治療効果を示すことを見出し、これを動物用感染治療薬として製品化することに成功している。現在のところ発見された新規抗生物質で実用化される物の割合は3千分の1だといわれるが、そうした厳しい状況の中で本物質が実用化された事は、優れたスクリーニング技術、生物評価方法および生産技術の総合化の結果として極めて高く評価される。上記の理由により審査委員一同、討議の結果、本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として充分価値あるものと認めた。

[学位論文の基礎となる学術論文]

- 1) Rokuro Okamoto, Hideo Nomura, Masami Tsuchiya, Hiroshi Tsunekawa, Tsumoru Fukumoto, Taiji Inui, Tsutomu Sawa, Tomio Takeuchi and Hamao Umezawa : "The Activity of 4"-Acylated Tylosin Derivatives Against Macrolide-Resistant Gram-Positive Bacteria, The Journal of Antibiotics, 32, 542-544, 1979
- 2) Rokuro Okamoto, Tsumoru Fukumoto, Hideo Nomura, Kohki Kiyoshima, Kenji Nakamura, Akira Takamatsu and Tomio Takeuchi, Screening for 16-Membered Macrolide-transforming Microorganisms, Journal of Fermentation Technology, 57, 519-528, 1979
- 3) Rokuro Okamoto, Tsumoru Fukumoto, Hideo Nomura, Kohki Kiyoshima, Kenji Nakamura and Akira Takamatsu, Physico-chemical Properties of New Acyl Derivatives of Tylosin Produced by Microbial Transformation, The Journal of Antibiotics, 33, 1300-1308, 1980
- 4) Rokuro Okamoto, Masami Tsutiya, Hideo Nomura, Hiroshi Iguchi, Kohki Kiyoshima, Senji Hori and Taiji Inui, Biological Properties of New Acyl Derivatives, The Journal of Antibiotics, 33, 1309-1315, 1980

[既発表学術論文]

- 1) Akira Arisawa, Naoto Kawamura, Takao Narita, Ikuo Kojima, Kazuhiko Okamura, Hiroshi Tsunekawa, Takeo Yoshioka and Rokuro Okamoto, Direct Fermentative Production of Acyltylosins by Genetically-engineered Strains of *Streptomyces fradiae*, *The Journal of Antibiotics*, 49, 349-354, 1996
- 2) Akira Arisawa, Naoto Kawamura, Kouji Takeda, Hiroshi Tsunekawa, Kazuhiko Okamura and Rokuro Okamoto, Cloning of the Macrolide Antibiotic Biosynthesis Gene *acyA*, which Encodes 3-*O*-Acyltransferase, from *Streptomyces thermotolerans* and Its Use for Direct Fermentative Production of a Hybrid Macrolide Antibiotic, *Applied and Environmental Microbiology*, July, 2657-2660, 1994
- 3) Akira Arisawa, Hiroshi Tsunekawa, Kazuhiko Okamura, and Rokuro Okamoto, Nucleotide Sequence Analysis of the Carbomycin Biosynthetic Genes Including the 3-*O*-Acyltransferase Gene from *Streptomyces thermotolerans*, *Bioscience. Biotech. Biochem.*, 59, 582-588, 1995
- 4) Akira Arisawa, Naoto Arisawa, Hiroshi Tsunekawa, Kazuhiko Okamura, and Rokuro Okamoto, Cloning and Nucleotide Sequences of Two Genes Involved in the 4"-*O*-Acylation of Macrolide Antibiotics from *Streptomyces thermotolerans*, *Bioscience. Biotech. Biochem.*, 57, 2020-2025, 1993
- 5) Syoji Azuma, Hiroshi Tsunekawa, Mitsuyasu Okabe, Rokuro Okamoto, Shuichi Aiba, Hyper-production of L-tryptophan via fermentation, *Appl. Microbial Biotechnol.*, 39, 471-476, 1993
- 6) Hiroshi Tsunekawa, Syoji Azuma, Mitsuyasu Okabe, Rokuro Okamoto, and Shuichi Aiba, June 1992, 2081-2088, 1992