

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 29 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K13645

研究課題名(和文) 化学合成を基盤とした新しい抗真菌剤の開発

研究課題名(英文) Development of novel antifungal based on chemical synthesis

研究代表者

大石 徹 (Oishi, Tohru)

九州大学・理学研究院・教授

研究者番号：90241520

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：AM3のC43-C67部分を持つ蛍光分子プローブを合成し、リポソームとインキュベートして蛍光顕微鏡により観察した結果、蛍光は観測されなかった。AM3のC43-C67部分では脂質膜への親和性が低いことが明らかになり、脂質膜と相互作用する分子を設計する上で有用な情報を得ることができた。抗真菌活性を示す最小構造単位を明らかにするために、アンフィジノール3のC21-C39/C52-C67部分に相当する人工短縮体モデル化合物の合成に成功した。この化合物は抗真菌活性を示さないことが明らかとなり、構造活性相関に関する有用な情報を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：The fluorescent molecular probe possessing the C43-C67 part of amphidinol 3 (AM3) was synthesized. Although liposomes were incubated with the molecular probe and observed by using fluorescence microscope, no fluorescent was detected. These results suggested that the C43-C67 part of AM3 was not enough to interact with lipid membrane and useful information to design new molecule possessing high affinity with lipid membranes. As a part of the structure-activity relationship studies to elucidate structure requirements for eliciting antifungal activity, a truncated analog corresponding to the C21-C39/C52-C67 section of AM3 was synthesized by using Suzuki-Miyaura coupling and Julia-Kocienski olefination as key steps. Although the biological activity of the analog was evaluated, it elicited no antifungal activity. These results that the two tetrahydropyran rings of AM3 are necessary to elicit antifungal activity.

研究分野：有機合成化学

キーワード：アンフィジノール3 天然物 抗真菌物質 ポリエンポリオール化合物 化学合成

### 1. 研究開始当初の背景

エボラ出血熱やデング熱など、21世紀の現代においても感染症による健康被害は人類にとって大きな脅威である。また、臓器移植に伴う免疫抑制剤の使用、HIV感染等による免疫機能の低下に起因する真菌による感染症は、医療現場で大きな問題となっている。しかし、真菌はヒトと同じく真核生物であるために、優れた選択毒性を発揮できる薬物が少なく、抗真菌薬の開発は、真正細菌に対する抗菌剤に比べて立ち遅れている。ポリエンマクロリド系(アンフォテリシンB)、アゾール系(ミコナゾール)など(図1)、真正細菌に対する薬剤に比べてその種類は遥かに少ない。さらに、薬剤に対する耐性を持つ病原菌の増加・拡散を防ぐためには、より効果的で信頼のおける抗真菌剤の開発が求められている。例えば、アンフォテリシンBは腎臓に対する副作用、ミコナゾールは肝臓や胃腸に対する副作用および耐性菌の出現が問題となっている。

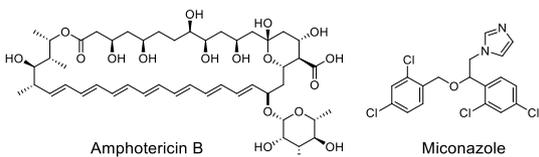


図1

一方、渦鞭毛藻(*Amphidinium klebsii*)から単離されたアンフィジノール3(AM3)は、分子量が1,300を越える海洋天然物であり、強い抗真菌活性(MIC = 4 µg/disc)および溶血活性(EC<sub>50</sub> = 9.4 nM)を示す(図2)。この物質は直接細胞膜に作用し、分子複合体を形成して細胞膜に穴をあけることによって抗真菌活性を発現することが示唆されている。酵素阻害剤とは異なるため、耐性菌が出現しにくい新しいタイプの抗真菌剤のリード化合物として注目されている。AM3は、特異な構造と興味深い生物活性を有しているため、世界中の有機合成化学者が興味を持っており、全合成研究に取り組んでいる。Cossy(CNRS, 仏)、Roush(Scripps, 米)、Paquette(Ohio State, 米)、Rychnovsky(UC Irvine, 米)、およびMarko(ベルギー)など、天然物合成で著名な研究者が研究成果を発表しているが、未だに全合成は達成されていない。また、化学合成した中間体に対する構造活性相関研究に関しては、まったく行われていない現状にある。

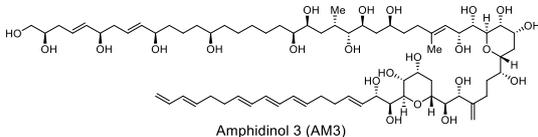


図2

### 2. 研究の目的

本研究者は、これまでの研究から「AM3の全構造が生物活性発現において必ずしも必要ではない」という仮説を立てた。そこで本研究では、AM3を基盤としたより簡便に合成できる化合物の分子設計と化学合成を行い、抗真菌活性を評価することで生物活性を発現する最小構造単位を明らかにする。さらに、構造活性相関の結果を基に、ヒト細胞よりも真菌細胞に対する選択毒性が高い誘導体の創製を行うことを目的とした。また、ポリエン部分を含む簡略化したAM3の部分構造を蛍光性の分子プローブへと誘導し、膜への親和性を評価することを目的とした。

### 3. 研究の方法

蛍光分子プローブ：本研究者は、既に疎水性部分であるポリエン部と親水性部分であるTHP環をひとつ含むAM3のC43-C67部分(AMQ-10, **1**)を合成し(Oishi *et al. Org. Lett.* **2008**, *10*, 5203.), その生物活性を評価した結果、抗菌活性および溶血活性のいずれも示さないことが明らかとなった(図3)。分子構造から考えると、この分子は細胞膜には結合していると予想されるが、分子複合体を形成しないために生物活性を発現しないと考えられる。そこで、この分子に蛍光基を導入した分子プローブ(**2**)を調製し、蛍光染色により膜との親和性を評価することにした。

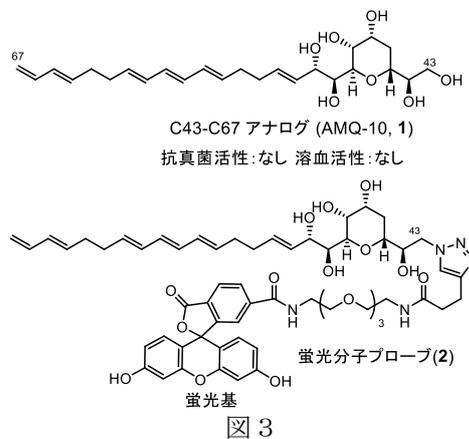


図3

簡略化アナログ：AM3のC43-C67部分(AMQ-10)では抗真菌活性を示さなかったため、C21-C39部分とC52-C67部分を併せ持つ新しい分子(AMQ-20, **3**)を設計・合成し、抗真菌活性を評価することにした(図4)。

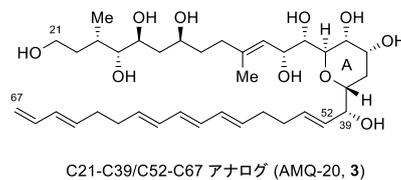


図4

#### 4. 研究成果

蛍光分子プローブ : AM3 の C43-C67 部分に対応するアジド(4)を合成し、アルキン(5)とのクリック反応, 続く TBS 基の除去によりリンカー部が導入された (6) を得た (図 5)。Fmoc 基を除去しつつ, 蛍光基部分(7)との縮合を行うことで, 蛍光分子プローブ(2)を合成することに成功した。

POPC とエルゴステロール (70:30) を用いてリポソームを調製し, 蛍光分子プローブ(2)をインキュベート後に蛍光顕微鏡を用いてリポソームを観察した。しかしながら, リポソーム上には蛍光は観測されず, AM3 の C43-C67 部分を有する分子プローブの膜への親和性が低いことが明らかになった。膜と相互作用するためには C43-C67 部分では不十分であることを示唆する結果であり, 更なる分子設計を行う上で有用な情報を得ることができた。

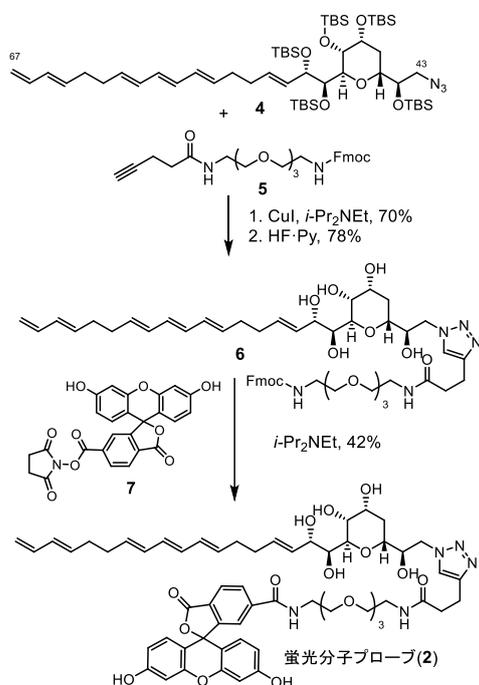


図 5

簡略化アナログ : AM3 の C21-C29 部分の末端オレフィン (8) と C30-C52 部分のヨードオレフィン (9) の鈴木-宮浦カップリング, つづく C53-C67 部分のスルホン (10) との Julia-Kocienski 反応を経由して, C21-C39/C52-C67 短縮体アナログ (AMQ-20, 3) を合成することに成功した (図 6)。また, 右田-小杉-Stille カップリング, および根岸カップリング反応を利用することで, スルホン (10) を効率的に合成する方法の開発にも成功した。

短縮体アナログ (AMQ-20, 3) の抗真菌活性を *Aspergillus niger* を用いたペーパーディスク法により評価した結果, 300µg/disk 以下では抗菌活性を示さないことが明らかとなっ

た。抗真菌活性を発現するためには C21-C39/C52-C67 短縮体アナログでは不十分であることが明らかとなり, 更なる分子設計を行う上で有用な情報を得ることができた。

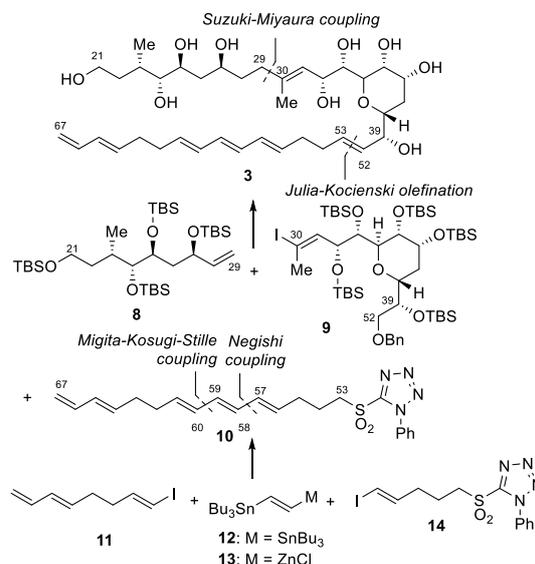


図 6

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

1. Synthesis of a Truncated Analog of Amphidinol 3 Corresponding to the C21-C39/C52-C67 Section. Makoto Ebine, Yuri Takada, Naoto Yanai, and Tohru Oishi *Chem. Lett.* **2017**, 46, 662-664. doi 10.1246/cl.160985

[学会発表] (計 22 件)

2. Development of Molecular Probes Based on the Partial Structure of Amphidinol 3 Yuri Takada, Makoto Ebine, Tohru Oishi 日本化学会九州支部設立 100 周年記念国際シンポジウム (第 52 回化学関連支部合同九州大会) 2015 年 6 月 27 日 (土) 北九州国際会議場

3. アンフィジノール 3 の C31-C42 部分の合成研究 若宮佑真, 海老根真琴, 大石 徹 第 52 回化学関連支部合同九州大会 2015 年 6 月 27 日 (土) 北九州国際会議場

4. 機能解明を志向した生物活性分子の設計・合成・評価 大石 徹 (招待講演) 2015 年 6 月 29 日 北海道大学理学部

5. アンフィジノール 3 の C31-C42 部分の合成研究 若宮佑真, 海老根真琴, 大石 徹 第 50 回天然物談話会 2015 年 7 月 1 日 (水) ~7 月 3 日 (金) グリーンピア岩沼 モンタナリゾート

6. アンフィジノール 3 の C21-C29 部分の合成研究 柳井直人, 海老根真琴, 大石 徹 第 50 回天然物談話会 2015 年 7 月 1 日 (水) ~7 月 3 日 (金) グリーンピア岩沼 モンタナリゾート
7. アンフィジノール 3 の C31-C52 部分の合成研究 若宮佑真, 海老根真琴, 大石 徹 第 27 回若手研究者のためのセミナー 2015 年 8 月 29 日 九州大学馬出キャンパス
8. アンフィジノール 3 の C1-C29 部分の合成研究 柳井直人, 片山創太, 鶴田丈士, 海老根真琴, 大石 徹 第 5 回 CSJ 化学フェスタ 2015 2015 年 10 月 13 日 (火) ~10 月 15 日 (木) タワーホール船堀
9. 機能解明を志向した生物活性分子の設計・合成・評価 大石 徹 (招待講演) 2015 年 11 月 26 日 茨城大学理学部
10. Synthetic Studies of Molecular Probes Based on the Partial Structure of Amphidinol 3 Yuri Takada, Makoto Ebine, Tohru Oishi Pacificchem 2015 #237 Molecular Function of Natural Products December 15-20, 2015 Hawaii, USA
11. Synthetic study of the C31-C67 part of amphidinol 3 Yuma Wakamiya, Makoto Ebine, Tohru Oishi Pacificchem 2015 #237 Molecular Function of Natural Products December 15-20, 2015 Hawaii, USA
12. Structure-activity relationship studies of maitotoxin based on chemical synthesis of partial structures Tohru Oishi (招待講演) Pacificchem 2015 #237 Molecular Function of Natural Products December 15-20, 2015 Hawaii, USA
13. Synthetic Study of the C31-C67 Part of Amphidinol 3 Yuma Wakamiya, Makoto Ebine, Tohru Oishi 第 5 回統合物質国際シンポジウム 2016 年 1 月 29 日~1 月 30 日 名古屋大学
14. アンフィジノール 3 の C31-C67 部分の合成研究 若宮佑真, 海老根真琴, 大石 徹 日本化学会第 96 春季年会 (2016) 2016 年 3 月 24 日 (木) ~3 月 27 日 (日) 同志社大学京田辺キャンパス
15. アンフィジノール 3 の C39-C52 部分の合成研究 高下朋之, 若宮佑真, 海老根真琴, 大石 徹 第 53 回化学関連支部合同九州大会 2016 年 7 月 2 日 (土) 北九州国際会議場
16. アンフィジノール 3 の C31-C67 部分の合成と絶対配置の確認 若宮佑真, 海老根真琴,

大石 徹 第 53 回化学関連支部合同九州大会 2016 年 7 月 2 日 (土) 北九州国際会議場

17. アンフィジノール 3 の C31-C67 部分の合成と絶対配置の確認 若宮佑真, 海老根真琴, 大石 徹 第 51 回天然物談話会 2016 年 7 月 6 日 (水) ~7 月 8 日 (金) 湯沢東映ホテル

18. アンフィジノール 3 の C31-C67 部分の合成と絶対配置の確認 若宮佑真, 海老根真琴, 大石 徹 第 28 回若手研究者のためのセミナー 2016 年 8 月 27 日 九州大学伊都キャンパス

19. Synthesis and confirmation of the absolute configuration of the C31-C67 section of amphidinol 3 Yuma Wakamiya, Makoto Ebine, Tohru Oishi Junior ICCEOCA-6 2016 年 10 月 24 日 九州大学先端物質化学研究所

20. アンフィジノール 3 の C39-C52 部分の合成研究 高下朋之, 若宮佑真, 海老根真琴, 大石 徹 第 6 回 CSJ 化学フェスタ 2016 2016 年 11 月 14 日~11 月 16 日 11 月 14 日 タワーホール船堀

21. Flowmicro Synthesis of Optically Active (*E*)-1-Iodohepta-1,5-dien-3-ol Sota Katayama, Tohru Oishi ISONIS-10 2016 年 11 月 18 日~11 月 19 日 淡路夢舞台国際会議場

22. アンフィジノール 3 の絶対配置の確認 若宮佑真, 海老根真琴, 大石 徹 日本化学会第 97 春季年会 (2017) 2017 年 3 月 16 日~3 月 19 日 慶應義塾大学 日吉キャンパス

23. 光学活性な (*E*)-1-ヨードヘキサ-1,5-ジエン-3-オールのプロマイクロ合成 片山創太, 大石 徹 日本化学会第 97 春季年会 (2017) 2017 年 3 月 16 日~3 月 19 日 慶應義塾大学 日吉キャンパス

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]  
ホームページ

<http://www.scc.kyushu-u.ac.jp/Seibutsuyuki/index.htm>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大石 徹 (OISHI, Tohru)  
九州大学・大学院理学研究院・教授  
研究者番号：90241520

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

海老根 真琴 (EBINE, Makoto)  
九州大学・大学院理学研究院・助教  
研究者番号：70545574

### (4) 研究協力者

高田 悠里 (TAKADA, Yuri)  
若宮 佑真 (WAKAMIYA, Yuma)  
柳井 直人 (YANAI, Naoto)  
高下 朋之 (KOGI, Tomoyuki)  
片山 創太 (KATAYAMA, Sota)