

令和元年6月4日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07713

研究課題名(和文)立体化学決定を目的とした天然由来抗菌剤の合成研究

研究課題名(英文) Synthetic study of natural antibacterial agents for the purpose of determination of their stereochemistry

研究代表者

石神 健 (ISHIGAMI, Ken)

東京農業大学・生命科学部・教授

研究者番号：70292787

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：病原微生物の薬剤耐性は依然問題であり、新規抗菌物質の探索は重要な課題である。今回、顕著な活性を有しながら構造が未解明である天然抗菌物質を選択し、合成研究による絶対立体配置を含めた構造決定を行った。

黄色ブドウ球菌に対する抗菌物質Glabramycin類に関しては、報告されている構造に誤りがあることを指摘し、本化合物の全合成により、不明であった一部の立体化学の決定とともに構造を改訂することに成功した。また、薬剤耐性ピロリ菌に対し抗菌活性を示すセスキテルペンに関しては、ラジカル環化反応によるラセミ体合成と、中間体の光学分割による両鏡像体の合成に成功し、天然物の絶対立体配置を決定することが出来た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新規薬剤の探索研究において、活性物質の構造を完全に決定することが研究の礎となるが、新規薬剤としての可能性を有しながら真の構造が未解明であり、その後の応用研究が進展しない天然生物活性物質は数多く存在する。

今回、黄色ブドウ球菌に対する抗菌物質であるGlabramycinと、薬剤耐性ピロリ菌に対し抗菌活性を示すセスキテルペンの全合成研究を通じて、立体化学を含めた真の構造を改訂・決定できた。これらの新規薬剤としての可能性を検討する上で重要な知見である。

研究成果の概要(英文)：Even today discovery of new antibiotics is very important, because the treatment against drug-resistant bacteria has remained largely unmet. We selected natural antibacterial substances with remarkable activity, whose structure remained unknown, and carried out structure determination including absolute configuration by synthetic studies.

Structural revision of glabramycin B was achieved by enantioselective synthesis of our proposed structure. By this study, we were able to correct the reported structural misassignment, and to confirm the relative configuration of glabramycin B.

We also succeeded in the synthesis of both enantiomers of a sesquiterpene, potent anti-H. pylori agent, employing radical cyclization. Both enantiomers were prepared via optical resolution of racemic intermediate. By this synthesis, we were able to determine the absolute configuration of the natural product.

研究分野：生物有機化学

キーワード：天然物化学 有機化学 立体化学 構造決定 抗菌活性 抗ピロリ菌活性 glabramycin セスキテルペン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ペニシリンの発見以来、様々な抗生物質の開発と共に感染症の多くは有効な治療が可能となった。しかし、病原微生物の薬剤耐性獲得は大きな問題であり、新規抗菌物質の開発は依然重要な課題として残されている。最近では作用機序に基づき分子レベルでの標的を定めた創薬による分子標的治療薬の開発が積極的に行われているが、現在臨床使用される薬剤の過半数は天然由来の活性物質がベースとなっていることからわかる通り、新規薬剤もしくはそのリード化合物を天然に求める探索研究は不可欠である。天然物化学の分野では、活性物質の構造を完全に決定することが更なる研究の礎となるが、新規薬剤としての可能性を有しながら、真の構造が未解明であるために、その後の活性試験や応用研究が発展しない天然生物活性物質は数多く存在する。近年様々な分析技術が発達し構造決定は以前と比較して容易になったとはいえ、天然物の構造決定に誤謬があることもあり、特に立体化学の決定には困難が伴うことも多い。天然物の真の構造決定・確認には、種々の機器分析結果を踏まえた上で有機合成的手法を用いるのが最も確実で有効である。また、化合物の構造と活性とは重要な相関を示すことも多く、詳細な生物学的研究や構造活性相関研究のためには立体化学を含めた構造決定は不可欠である。計算化学の発達により、創薬の過程では標的分子とのドッキングシミュレーションなども有効な手法となり得るが、この際にも活性物質の立体構造は重要であり、絶対立体配置の決定無しには応用研究は難しい。以上の観点から、顕著な活性を有しながら立体化学に疑義のある化合物、立体化学が未決定である化合物に着目し、合成研究による立体化学の解明を目指すこととした。

2. 研究の目的

病原微生物の薬剤耐性は依然として問題であり、リード化合物となり得る天然由来新規抗菌物質の探索は現在も重要な課題となっている。しかし、構造未確定のため詳細な活性試験や応用研究が進展しない天然生物活性物質は多い。今回、顕著な活性を有しながら構造が未解明である天然抗菌物質を選択し、合成研究による絶対立体配置を含めた真の構造決定を行う。黄色ブドウ球菌に対する抗菌物質 Glabramycin 類、薬剤耐性ピロリ菌に対し抗菌活性を示すセスキテルペンに着目し、構造決定を第一義に有機合成研究を行う。絶対立体配置を含めた構造の確定後には、類縁体なども用い、薬剤耐性菌に対する新規薬剤としての可能性を探る。

(1) 黄色ブドウ球菌に対する抗菌物質 Glabramycin 類

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) は膿症をはじめとして肺炎や敗血症など致死的となり得る感染症の原因菌であるが、院内分離された黄色ブドウ球菌の約 7 割が MRSA (メチシリン耐性株) であることから新たな作用機序の抗菌剤の開発が望まれている。Glabramycin 類は黄色ブドウ球菌に対する抗菌剤としてカビの培養液より単離されたポリケチドで、中でも Glabramycin C が最も高い抗菌活性を示し、薬剤耐性株への活性も期待されている。本化合物はリボソームタンパク質 S4 を標的としたスクリーニングで発見されたが、タンパク質合成を阻害するだけでなく RNA 合成も阻害するなど、作用機序の詳細は明らかにされていない。Glabramycin 類の相対立体配置は Singh により報告されているが、同様の骨格を有する Sch642305 (*Penicillium* 属から単離された細菌の DNA プライマーゼ阻害剤で、研究代表者らの全合成により立体構造を確認) や Dictyosphaeric Acid A (藻類より単離された MRSA に対する抗菌剤で、Taylor の全合成により立体構造を決定) とは異なっていた。研究代表者はこれまでに、不斉点周辺の化学シフトや結合定数の比較から、Glabramycin 類の推定構造に誤りがあると考え、不明であった 20 位の立体化学も含めた新たな構造を提唱してきた。さらに、Sch 642305 合成法を応用した Glabramycin B および 20-*epi*-体の合成と、天然物との各種スペクトル比較により、真の Glabramycin B の相対立体配置が、研究代表者の提唱する立体化学であることを示唆する結果を得ている。今回、構造改訂をより確実にするために、合成経路の効率化によるスケールアップを検討しながら Glabramycin B を再合成するとともに、Singh により報告されている Glabramycin B (11-*epi*-体) の合成も検討する。さらには比旋光度や CD スペクトルなどの測定により、絶対立体配置の決定も検討する。

(2) 薬剤耐性ピロリ菌に対し抗菌活性を示すセスキテルペン

ピロリ菌 (*Helicobacter pylori*) による感染症は胃潰瘍や胃ガン等の原因菌であるが、日本人の約半数が感染しているといわれる。ピロリ菌による感染の治療は、2 種の抗生物質にプロトンポンプ阻害剤を併用する三重療法が一般的であるが、耐性菌の出現が重大な問題となっている。2005 年にビャクダンより単離されたサンタロール型セスキテルペンは抗ピロリ菌活性を有し、薬剤耐性菌に対しても高い活性を有すると報告されている。本化合物の立体化学の解明と薬剤耐性を克服し得る化合物の開発を目的に合成研究を行うこととした。研究代表者はこれまでに、本化合物の有するピシクロ[2.2.1]ヘプタン骨格を「テザー法」によるタンデムラジカル環化反応で構築する方法を開発している。環化の配座を固定した立体選択的な 2 度の 5-*exo*-型ラジカル環化反応を用い、本化合物のラセミ体合成により天然物の相対立体配置を確認出来た。今回、本環化反応を光学活性体合成に応用することにより、天然物の絶対立体配置を決定し、薬剤耐性ピロリ菌に対する新規薬剤の開発につなげる。

3. 研究の方法

黄色ブドウ球菌に対する抗菌物質 Glabramycin 類、薬剤耐性ピロリ菌に対し抗菌活性を有すセスキテルペンについて、天然物の絶対立体配置の決定を第一義に、両化合物を並行して光学活性体合成を行う。この際、これまでに開発した合成経路を基盤として、更なる効率化とスケールアップを図る。光学活性体の合成を完了次第、天然物の立体化学の決定を試みる。比旋光度を天然物と正確に比較することにより絶対立体配置の決定が可能になると考えられるが、必要に応じて CD スペクトルなどを用いた比較を行うことも視野に入れる。絶対立体配置の決定後には天然由来抗菌剤の薬剤耐性菌に対する可能性を探る。

4. 研究成果

病原微生物の薬剤耐性は依然として問題であり、リード化合物となり得る天然由来新規抗菌物質の探索は現在も重要な課題となっている。しかし、構造未確定のため詳細な活性試験や応用研究が進まない天然生物活性物質は多い。そこで顕著な活性を有しながら構造が未解明である 2 種類の天然抗菌物質を選択し、合成研究による絶対立体配置を含めた真の構造決定を目的に合成研究を行った。

(1) 黄色ブドウ球菌に対する抗菌物質 Glabramycin 類

黄色ブドウ球菌に対する抗菌物質 Glabramycin 類に関しては、類縁化合物との各種データの比較から、Singh らが報告している構造とは異なる独自の構造を提唱してきたが、より確実に相対立体配置を改訂するため、未だ行われていない Singh の報告構造 (11-epi-体) の合成と、研究代表者の提唱構造の再合成を検討した。Singh の報告構造に関しては側鎖を省略した類縁化合物を極微量合成したが、NMR スペクトルにおいて一部のケミカルシフトが天然物とは異なるという知見を得た。一方、我々の提唱構造の再合成においては以前の合成経路を一部見直し、工程の大幅な効率化に成功し、天然物との詳細な比較から我々の改訂構造の妥当性を確実に示すことが出来たと考えている。相対立体配置については改訂に成功したが、絶対立体配置の決定は、報告されている天然物の比旋光度の絶対値は極めて小さいことから、確実な決定は困難であると判断した。さらに合成品に関しては CD スペクトルなども測定したが、天然物が入手不可能でありその絶対立体配置の決定には至らなかった。従って今回の研究は、相対立体配置の訂正と決定という結果を持って完了することとし、最終報告として学術雑誌に投稿した。

(2) 薬剤耐性ピロリ菌に対し抗菌活性を示すセスキテルペン

薬剤耐性ピロリ菌に対し抗菌活性を示すセスキテルペンに関しては、既に完了しているラセミ体合成における中間体に対して速度論的光学分割を行えば、両鏡像体の合成が可能と考え合成研究を行った。光学分割の条件検討にはジアステレオ選択的なラセミ中間体の大量合成が不可欠であるので、これまでに問題のあった各工程を再検討した。その結果、ラセミ体合成における収率の再現性などの問題点はおおむね克服し、安定したラセミ体合成経路を確立したので、次に中間体での光学分割を検討した。まず、Brown らの手法を応用し、ラジカル環化成績体であるピシクロ [2.2.1]ヘプタンノン中間体の不斉還元による速度論的光学分割を検討したが、高い選択性は観測されなかった。一方、合成終盤のヘミアセタール中間体に対して、各種光学活性アルコールを作用させたところ、生成したアセタールのジアステレオマーがクロマトグラフィーや再結晶で分離可能であることを見出した。中でも (-)-メントールとのアセタール形成を行った際に、シリカゲルクロマトグラフィーでの各異性体分離が容易に行えるだけでなく、一方のジアステレオマーの結晶化が可能であることを見出した。さらに、光学分光分割により得られた結晶性アセタールに関しては、X 線結晶構造解析により絶対立体配置を確実に決定することが出来た。光学分割により得られた両鏡像体は、それぞれラセミ体合成と同様の経路で最終目的物へと誘導し、両鏡像体の合成を達成した。合成したセスキテルペンの両鏡像体の各種スペクトルは天然物と完全に一致した。また、合成品の比旋光度を報告されている天然物のデータと比較したところ、天然物の絶対立体配置を 1R, 2S, 3R, 4S であることを決定することも出来た。現在、最終報告としての詳細を投稿準備中である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2 件)

石神 健, 抗菌剤グラブラマイシンの合成と計算による構造改訂. 化学と生物, 査読有, Vol. 56, 2018, pp. 240-241.

doi: 10.1271/kagakutoseibutsu.56.240

M. Yamamoto, K. Ishigami, H. Watanabe, First total synthesis of glabramycin B and revision of its relative configuration. *Tetrahedron*, 査読有, Vol. 73, 2017, pp. 3271-3280.

doi: 10.1016/j.tet.2017.04.061

〔学会発表〕(計4件)

門脇 和生, 山田 慎也, 會場 翔平, 川崎 常臣, 勝田 亮, 矢島 新, 額田 恭郎, 滝川 浩郷, 渡邊 秀典, 石神 健, (Z)-2 -Hydroxy-14-hydro- -santalol の両鏡像体の合成と絶対立体配置の決定. 日本農芸化学会 2019 年度大会 (東京), 2019.

Kazuki Kadowaki, Shinya Yamada, Ryo Katsuta, Arata Yajima, Tomoo Nukada, Hirosato Takikawa, Hidenori Watanabe, Ken Ishigami, Synthesis of (Z)-2 -hydroxy-14-hydro- -santalol and determination its absolute configuration. 14th International Kyoto Conference on New Aspects of Organic Chemistry (Kyoto), 2018.

門脇和生, 山田慎也, 勝田亮, 矢島新, 額田恭郎, 滝川浩郷, 渡邊秀典, 石神 健, 絶対立体配置決定を目的とした抗ピロリ菌活性セスキテルペンの合成研究. 第 62 回 香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会 (長崎), 2018.

石神 健, 天然活性物質の構造改訂と機能解析を目的とした合成研究. 農薬部会第 107 回セミナー (東京), 2017.

〔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〕

ホームページ等

東京農業大学・分子設計学研究室

http://www.nodai.ac.jp/academics/life_sci/mole_life/lab/143/

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号 (8桁):

(2)研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。