

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：32607
研究種目：若手研究
研究期間：2019～2020
課題番号：19K16318
研究課題名(和文) 非抗菌的感染症治療薬創製を指向したT3SS阻害活性を示す天然有機化合物の合成研究

研究課題名(英文) Synthetic study of naturally occurring type III secretion system inhibitors towards the creation of non-microbial anti-infective agent

研究代表者
野口 吉彦 (Noguchi, Yoshihiko)

北里大学・感染制御科学府・特任助教

研究者番号：00758170
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：大村智記念研究所において新たにIII型分泌装置阻害活性が見出されたオーロドックスの特異な生物活性ならびに特徴的な構造に興味を持ち、オーロドックスを基盤とした非抗菌的抗感染症薬の創薬研究に着手した。これまで本化合物の全合成例は一例しかなく、本合成ルートを創薬研究に利用することは困難であった。今回我々は本研究において、全合成に達成に向けて、3つに分割したオーロドックスの部分骨格の構築法の確立を行なった。実際に、安価な原料より数工程を経て、2つの部分骨格の構築を達成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

オーロドックスの単離から50年近くが経過しているが、化学合成の報告は1985年の1例のみである。先に報告された既知の合成ルートでは、多様な誘導体を簡便かつ効率的に取得することは困難であったため、新たな化学合成法の確立が必須であったため、本研究では既存の手法よりも単工程で各骨格を供給できる合成ルートの確立を目指した。更に本合成ルートの確立は、高T3SS阻害活性化合物の探索など創薬研究に展開できる。病原性細菌の感染機構や病原性発現機構を標的とした薬剤は抗菌活性を示すことなく、感染源若しくは病原因子移行のみを阻害する。故に薬剤耐性菌(AMR)が出現しない新たな感染症治療薬になると期待される。

研究成果の概要(英文)：Aurodox was found to exhibit potent activity against type III secretion system of pathogenic bacteria without affecting growth in vitro. Structural features are unsaturated ketone connected pyridine fragment, tetra-substituted cis-tetrahydrofuran and highly functionalized pyranose moiety. Due to its unique biological activity and intriguing structure, we have been focusing on its total synthesis towards discovery of non-microbial anti-infective agent. Herein, we report the construction of the highly functionalized pyranose moiety utilizing Evans aldol and intramolecular epoxide opening reaction. In addition, we achieved pyridine fragment by using 1,2-addition.

研究分野：有機合成化学

キーワード：非抗菌的抗感染症薬 III型分泌機構 収束的全合成 ポリエン cis-テトラヒドロフラン ピリドン
感染防御薬 カスケード反応

1. 研究開始当初の背景

多くの細菌感染症に対する化学療法剤は殺菌または静菌的に作用し薬効を示すが、これら薬剤を用いる限り「薬剤耐性(Antimicrobial resistance, AMR)菌の出現」、「死滅細菌からの毒素の放出」、「常在細菌叢の攪乱」などの問題がある。従来の抗菌剤の標的は、細菌の代謝(タンパク質合成、脂肪酸合成、細胞壁合成など)であるため、細菌は対抗策として薬剤耐性を獲得していると考えられる。一方、病原性細菌の感染機構や病原性発現機構を標的とした薬剤は抗菌活性を示すことなく、感染源若しくは病原性因子移行のみを阻害する。故に薬剤耐性菌が出現しない新たな感染症治療薬になると期待される。大村智記念研究所(旧 北里生命科学研究所)では病原細菌に特異的なIII型分泌装置(Type 3 Secretion System, T3SS)に注目した。T3SSは腸管出血性大腸菌(EPEC)など多くのグラム陰性病原性細菌が有する病原性因子移行システムであり、宿主に病原性因子を注入し、症状を発症する。そのため T3SS を選択的に阻害する化合物は、『Phylatic drug(防御薬)』というコンセプトに合致した新たな感染症治療薬になる。そのような背景のもと、2011年、抗菌剤 Aurodox(1)や Factumycin(2)が T3SS 阻害活性を示すことを新たに見出した(Figure 1)。2は40年ほど前に単離された化合物で有るが光や酸性条件に対する不安定性から取り扱いが難しく、合成報告は少ない。唯一1985年に Nicolaou らは2の全合成を報告しているが多くの変換工程を要し、且つ活性発現部位の解明など誘導化研究は行われていない。一方で Elofsson や Procter, Miller, Anderson の各研究グループは T3SS 阻害する低分子化合物を報告したが、更なる創薬研究は報告されていない。

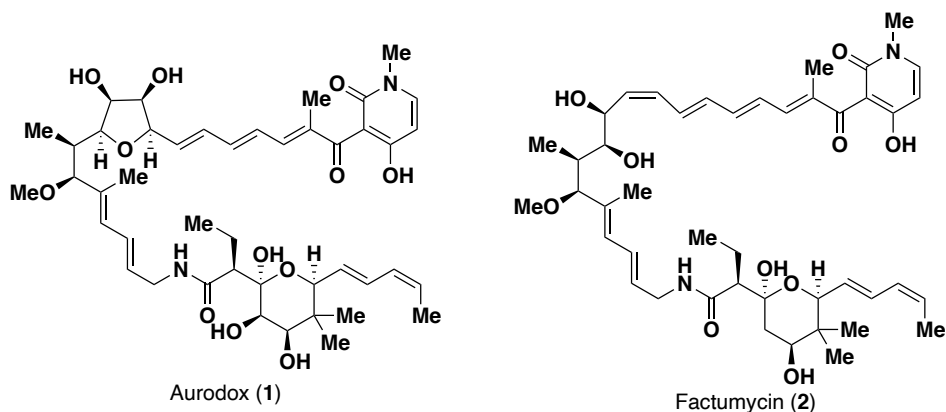


Figure 1 北里生命科学研究所で単離されたT3SS阻害化合物の構造

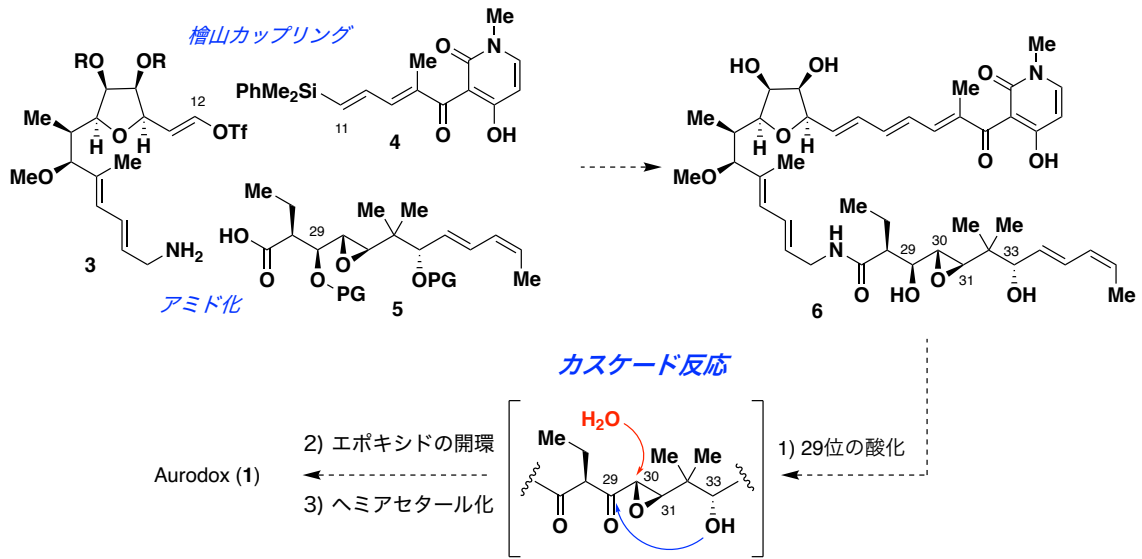
2. 研究の目的

本研究課題の目的は、過去に報告された 2 の全合成よりも、短工程かつ分子骨格を自在に変換できる合成ルートを確認することである。それを達成することで『①2 の T3SS 阻害活性に重要なファーマコフォアとは何か?』、『②抗菌活性と T3SS 阻害活性を完全分離は可能か?』について明らかにできると考えた。

3. 研究の方法

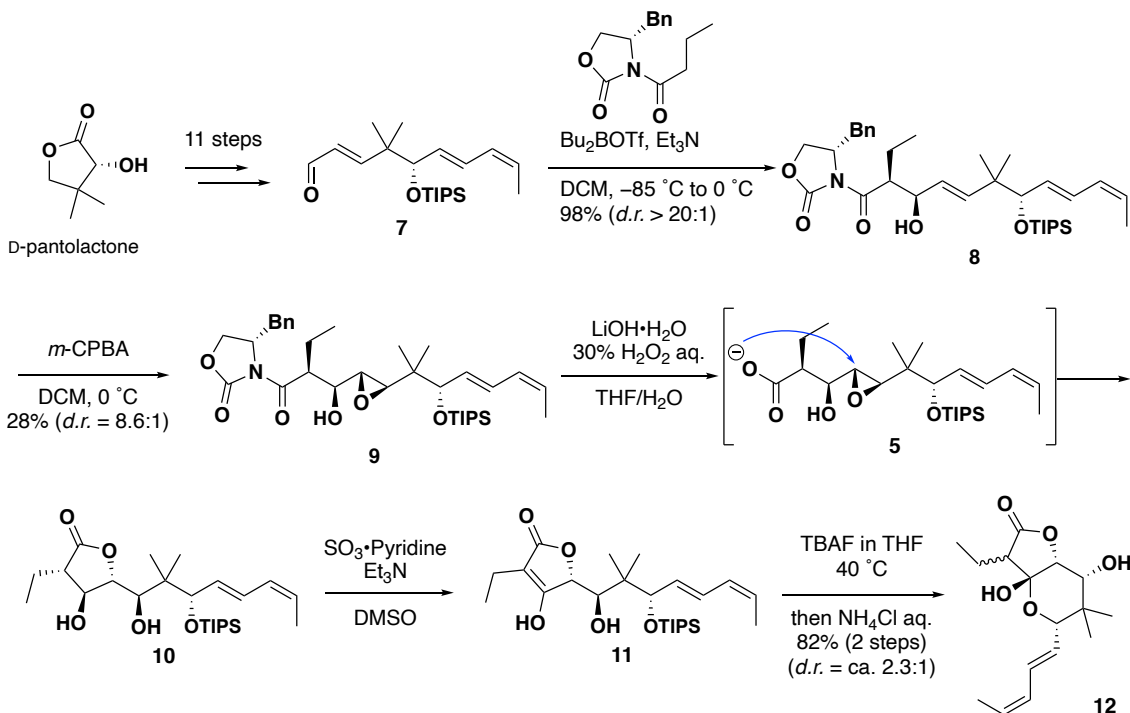
短工程かつ分子骨格を自在に変換できる合成ルートの確立を目指すため、標的分子である Aurodox(1)を3つの部分骨格に分割した。各部分骨格を連結し、合成最終段階で不安定なヘミアセタール骨格は、安定な前駆体から独自に設計したカスケード反応により、一挙に得る戦略を立てた。即ち、合成した各部分骨格を檜山カップリングおよびアミド化により連結することで、全炭素骨格を備えた前駆体(6)を得る。不安定なヘミアセタール骨格は、新たに設計したカスケード

ド反応により最終工程で一挙に構築する(Scheme 1)。



4. 研究成果

①エポキシカルボン酸(5)の合成

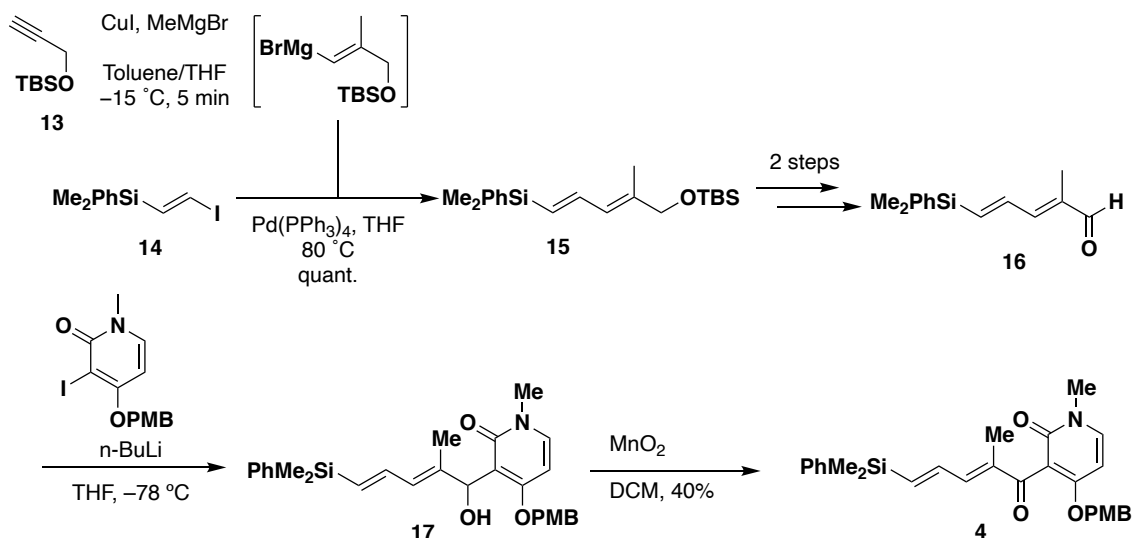


D-pantolactone から調製したアルデヒド(7)を用いて Evans アルドール反応を行い、単一のジアステレオマーとして 8 を得た。次いで *m*-CPBA を用いたジアステレオ選択的エポキシ化により低収率ながら、所望の鎖状エポキシド 9 が得られた。この際、末端 *Z*-オレフィンもエポキシ化される副生成物を得た。続いて所望のエポキシカルボン酸(5)へ導くため、オキサゾリジノンの加水分解を行なったところ、加水分解と同時に生じるカルボキシラートがエポキシドへ付加した γ -ブチロラクトン 10 が得られた。この結果より、適切なヒドリド求核剤を用いることで、Factumycin(2)の部分骨格の構築も可能になると期待された。

一方で中間体の立体化学を確認する目的で、12 への変換を試みた。位置選択的な酸化に続く

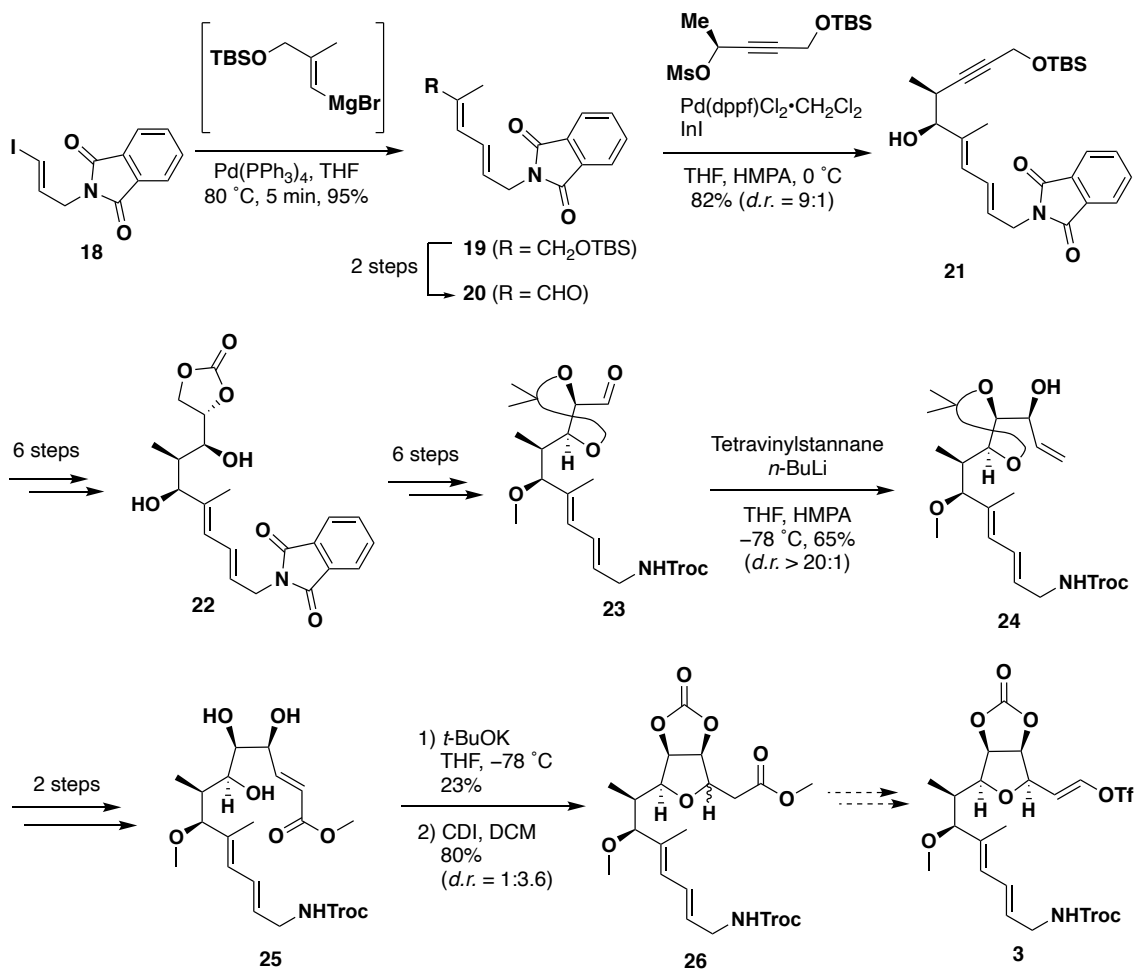
TIPS 基の除去を行い、**12** を良好な収率で得た。得られた **12** は、天然物の分解より得られた化合物と機器データが一致したことにより、構造ならびに絶対立体配置立体化学を決定した。

②ピリドンフラグメント(**4**)の合成



Scheme 3 ピリドンフラグメント(**4**)の合成

TBS で保護したプロパルギルアルコール **13** に対して CuI と MeMgBr から調整されるビニルマグネシウム中間体と別途調製したヨウ化ビニル **14** の熊田クロスカップリングによりジエン **15** を得た。得られた **15** をアルデヒドにした後、ピリドン求核剤を用いた 1,2-付加を行なった。得られたアルコール体 **17** が不安定であったことから、一挙に酸化を行い、低収率ながらピリドンフラグメント(**4**)を得ることができた。



Scheme 4 *cis*-テトラヒドロフランフラグメント (**3**)の合成

先の合成と同様に調製したビニルマグネシウム中間体に対してヨウ化ビニルとの熊田クロスカップリングを行い、**19**を構築した後に、Marshall 不斉プロパルギル化により **21**を合成した。12工程を経て **23**に変換した後、ビニルリチウムを用いた 1,2-付加により、単一のジアステレオマーとして **24**を得ることができた。立体選択性は、polar Felkin-Anh モデルを経由することで発現したと考えている。次いでクロスメタセシス反応を経て **25**を合成した後、強塩基存在下 oxa-Michael 反応によるテトラヒドロフラン環の形成、ジオールの保護を行い、**26**を得た。現在 oxa-Michael 反応のジアステレオ選択性が低いため、改善を試みている。今後は、更なる変換を行い、テトラヒドロフランフラグメントを調製し、aurodox の全合成に繋げていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ohara Motoyoshi, Ikeda Akari, Nakajima Asuka, Ono Takanori, Noguchi Yoshihiko, Watanabe Akito, Hirose Tomoyasu, Sunazuka Toshiaki	4. 巻 66
2. 論文標題 Towards the total synthesis of aurodox: Preparation of the key hemiacetal-lactone	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 152799 ~ 152799
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.tetlet.2020.152799	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大原 基義、池田 朱里、中嶋 明日香、大野 孝典、野口 吉彦、渡邊 彰人、廣瀬 友靖、砂塚 敏明
2. 発表標題 III型分泌装置(T3SS)阻害活性を有するAurodoxの全合成研究
3. 学会等名 日本薬学会 第141年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

ホームページ等 http://seibutyuuki.sakura.ne.jp/
--

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------