

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：11301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20566

研究課題名(和文)強力な抗菌作用を持つハイブリッド構造天然物アミコラマイシンの全合成と構造活性相関

研究課題名(英文) Synthetic study and structure-activity relationship of the broad-spectrum antibiotic amycolamycin, a hybrid molecular architecture

研究代表者

目黒 康洋 (Meguro, Yasuhiro)

東北大学・農学研究科・助教

研究者番号：10912157

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：amycolamycin(1)の全合成研究を実施し、1の全合成を達成した。まず、1を三つのユニットに分割して合成し、各ユニットの連結とBユニットの構築を行って、アミンによる環状カーボネートの開環でカーバメート基を導入した。最後にアセチル化と保護基の除去により、1の全合成を達成した。構造活性相関研究に用いるため、1のAおよびABユニットの合成を実施した。Aユニットは、位置選択的なアセチル基の導入を実現し、数工程の変換を経て合成した。ABユニットは、Bestmann ylideを用いたBユニットの構築を鍵反応として実施し、合成を完了した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

感染症治療の研究現場では、相次ぐ薬剤耐性菌の出現により、日々、新たな脅威が突き付けられている。今まさに、交差耐性を生じにくい新規な構造と作用機序を持ち、新しいカテゴリーの抗菌薬の起点となり得る薬剤の開発が急務となっている。申請者は構造的にも作用機序的にも全く新規な理想的抗菌薬リードとして大きな注目を集めているアミコラマイシン(1)の収束的合成経路を開拓した。現在、得られた1及び1の部分構造を用いて、構造活性相関研究を展開しており、画期的な感染症治療薬の開発に繋げることで、相次ぐ薬剤耐性菌の出現という閉塞状況を打破できると考えている。

研究成果の概要(英文)：The total synthesis of amycolamycin, which exhibits potent antibacterial activity, has been achieved in a convergent manner. The DE unit was synthesized in 12 steps from methyl (R)-lactate. The preparation of C unit was achieved in 6 steps including an intramolecular Diels-Alder reaction. The synthesis of the A unit derivative was accomplished in 9 steps from L-fucose. Glycosylation of C unit with DE unit provide CDE unit, which was converted into α -keto amide with A unit derivative stereoconvergently as a single anomer. Finally, a four-step sequence involving the formation of the tetramic acid moiety (B unit) completed the total synthesis of 1. Syntheses of the A and AB units of 1 were performed for use in structure-activity relationship studies. The A unit was obtained from L-fucose via a regioselective acetylation. The synthesis of AB unit was completed with the construction of the B unit using Bestmann ylide as a key step.

研究分野：有機合成化学

キーワード：amycolamycin 抗生物質 有機合成化学 全合成

1. 研究開始当初の背景

感染症治療の研究現場では、相次ぐ薬剤耐性菌の出現 対応策としての既存薬の構造微改変 耐性菌の更なる高耐性化(いわゆる“スーパーバグ”の出現)により、日々、新たな脅威が突き付けられている。今まさに、交差耐性を生じにくい新規な構造と作用機序を持ち、新しいカテゴリーの抗菌薬の起点となり得る薬剤の開発が急務となっている。アミコラミシン(amycolamicin)(1)の標的タンパク質は細菌の DNA 合成必須酵素である DNA gyrase 及び topoisomerase IV であり、それらと 1 の共結晶 X 線解析から、1 は同じ標的を持つ既存薬とは全く異なる新規な結合様式(dual arm, U-shaped binding)を示すことが判明した(ACS Chem. Biol. 2014, 9, 2023)。このことは、既存の抗菌薬に交差耐性を示さず、耐性発現頻度も極めて低い(FOR 5×10^{-10} 未満)という 1 の良好な薬理特性の根拠となっている。また、ヒトの topoisomerase II は阻害せず、マウス急性毒性も無いことから、構造的にも作用機序的にも全く新規な理想的抗菌薬リードとして大きな注目を集めている(Bioorg. Med. Chem. 2016, 24, 6291)。さらに、2 つの新規単糖ユニット(図 1: A, D)と 3 つの構造ユニット(B, C, E)が連なった構造は、有機化学の見地からも近年稀に見る挑戦的な合成標的である。1 に関するこれまでの研究は、その構造、活性、タンパク質との構造学的相互作用に限られており、構造活性相関を含めて、有機化学的手法による新薬創製へのアプローチは皆無である。申請者は、各種誘導体の合成にも柔軟に対応できる収束的合成経路を開拓して 1 の初の全合成達成に挑むとともに、1 と受容体との共結晶構造情報に基づく構造活性相関研究を実施することで、より有効で実用的な画期的抗菌薬の創製を目指す。また、1 を構成する各ユニット及びそれらの複合ユニットの生理作用についても精査し、新規な医薬リードを探索する。

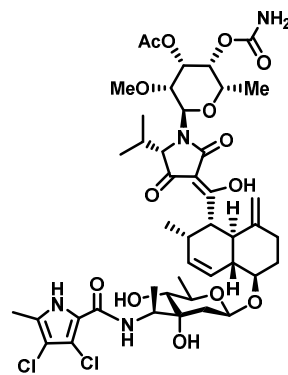


図1. amycolamicin (1)

2. 研究の目的

アミコラマイシン(amycolamicin)(1)は放線菌 *Amycolatopsis* sp. MK575-F5 が生産する抗生物質であり(図 1)、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)およびバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)を始め、極めて広範なグラム陽性・陰性の薬剤耐性菌に対して強力な抗菌作用を示す(MIC 0.125–1 $\mu\text{g/mL}$; Chem. Eur. J. 2012, 18, 15772)。1 は既存薬とは全く異なる作用機序で細菌の DNA gyrase 及び topoisomerase IV を阻害し、既存の抗菌薬に交差耐性を示さず、マウス急性毒性も示さないことから、構造的にも作用機序的にも全く新規な抗菌薬リードとして注目を集めている。本研究では、新しいカテゴリーの抗菌薬開発の起点となり得るハイブリッド型構造の天然物 1 について、初の全合成と構造活性相関研究を実施し、画期的な感染症治療薬の開発に繋げることを目指す。合成計画の随所に新戦略・新戦術を取り入れ、多彩な化合物ライブラリーの構築を可能とする合成戦略を開拓する。さらに、1 を構成する各ユニット(単独または複合構造)が未知の生理作用を持つ可能性があるため、それらユニット群の各種生理作用についても探求する。

3. 研究の方法

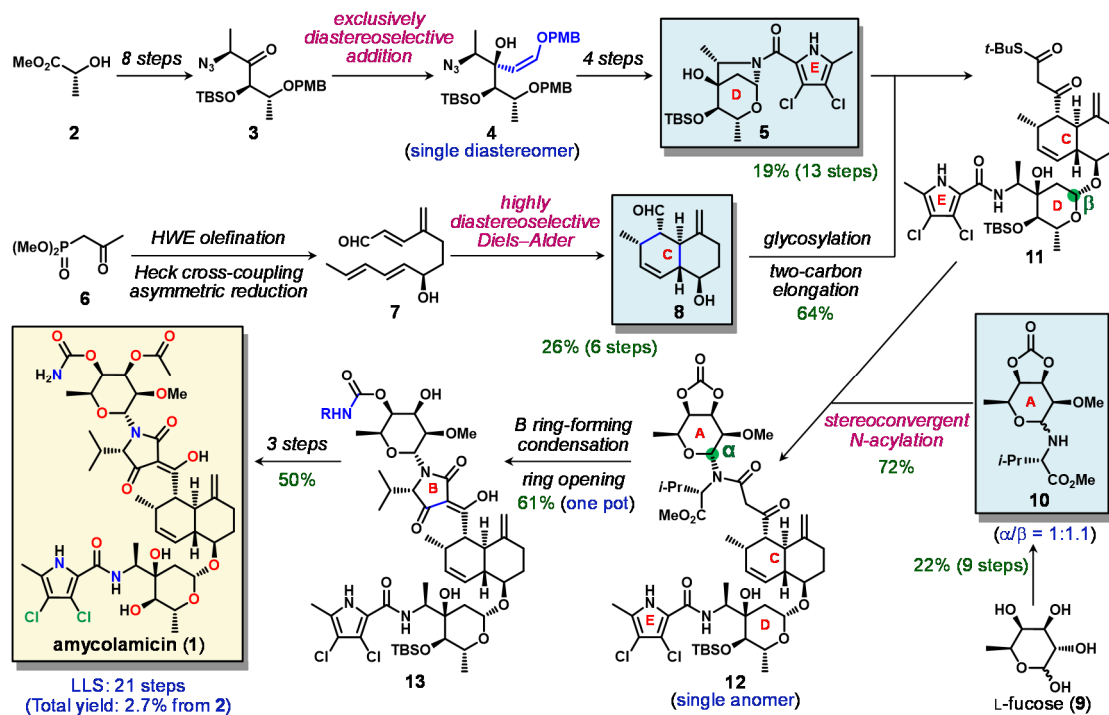
本研究の全合成計画では、1 を構成している 5 つのユニット(A, B, C, D, E)をそれぞれ調製した後に、適切な手段で順次連結して分子を組み上げる収束的合成戦略を採用する。各ユニットは手頃な大きさを持つため構造改変が容易であり、全合成研究によりユニット間の連結法を確立できれば、構造改変した各ユニットを連結するだけで 1 の広範な類縁体ライブラリーを構築できる。天然物の誘導体だけでは得難い多くの知見をもたらすと同時に、1 よりも優れた薬理特性を持つ新規抗菌薬の創製にも繋げると期待できる。また、1 の分解物である DE ユニットには、前立腺間質細胞に対する顕著な増殖抑制活性が見出され、抗癌剤への応用が期待されていることから(特開 2011-46622)、A ~ E 及び連結体(AB, BC, CDE など)やそれらの構造改変体にも未知の薬理作用が潜んでいる可能性がある。そのため、1 の全合成および 1 の部分構造を起点とした新規医薬の創製に向け、各ユニットの改変体及び連結体の合成も同時に実施する。

4. 研究成果

アミコラマイシンの全合成

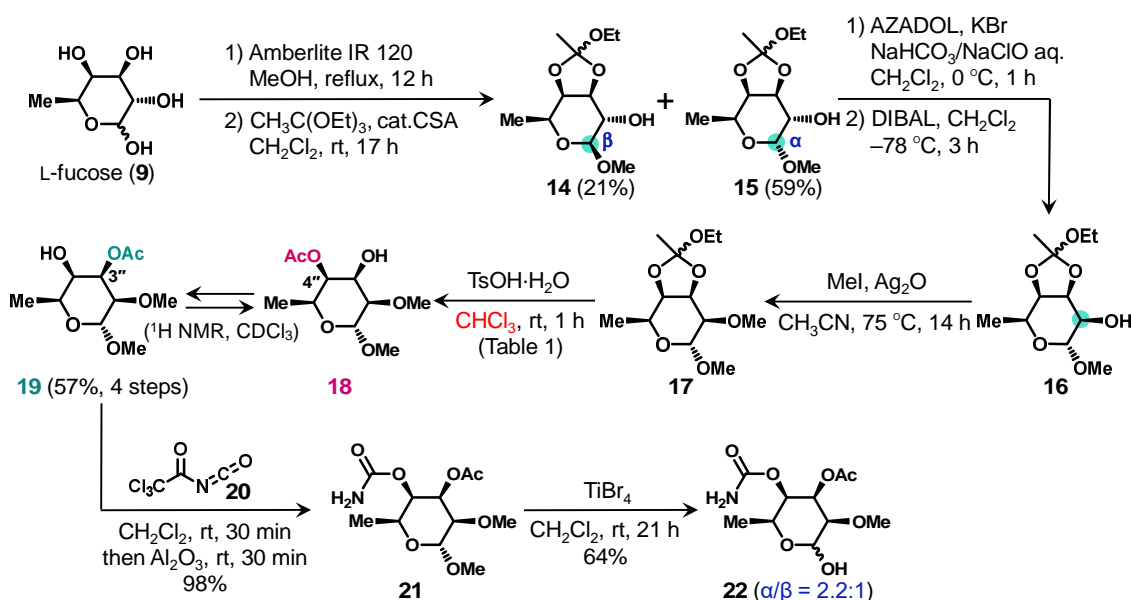
まず、1 の DE ユニットの合成に着手した。D 乳酸メチル(2)を出発原料として、Horner - Wadsworth - Emmons (HWE)反応及び Sharpless 不斉ジヒドロキシ化を含む 8 工程の変換により、ケトン 3 を調製した。3 に対して、ビニルリチウム試薬を作用させると Cornforth - Evans 遷移状態モデル (または polar Felkin - Anh 遷移状態モデル) に基づくジアステレオ選択的求核付加反応が進行し、4 を単一異性体として与えた。4 とピロールカルボン酸の縮合、保護基の除去及び N,O-アセタール化により DE ユニット(5)を合成した(13 steps, 19%)。C ユニットについては、ホスホネート(6)から HWE 反応、Heck 反応および不斉還元を含む 5 工程の変換によりテトラエナール 7 へと変換した。7 を Et_2AlCl 存在下、分子内 Diels - Alder 反応に付したところ、endo-equatorial 遷移状態を経由して高立体選択的に望む 8 が得られた(6 steps, 26%)。A ユニット誘導体(10)は L-フコース(9)を出発原料として、2 位ヒドロキシ基の立体反転、環状カーボネート化および L-バリニンメチルエステルとの N-グリコシル化により合成した(9 steps, 22%)。各ユニットの連結では、C ユニットの DE ユニットでグリコシル化した後、アルドール反応による増炭と酸化で -ケトチ

オエステル(11)へと導いた。続いて、10を用いて11によるN-アシル化を試みたところ、Aユニットのアノマー位に関して立体収束的に進行し、 β -ケトアミド12を単一アノマーとして与えた。Dieckmann縮合によりテトラミン酸部分(Bユニット)を構築した後、ジメトキシベンジルアミンによる環状カーボネート部分の開環で位置選択的にカーバメート基を導入した(12→13)。最後にアセチル化および保護基の除去により、1の全合成を達成した(LLS: 21 steps, Total yield: 2.7% from 2) (Y. Meguro, J. Ito, K. Nakagawa, S. Kuwahara, *J. Am. Chem. Soc.* **2022**, *144*, 5253.)。



Aユニットの合成

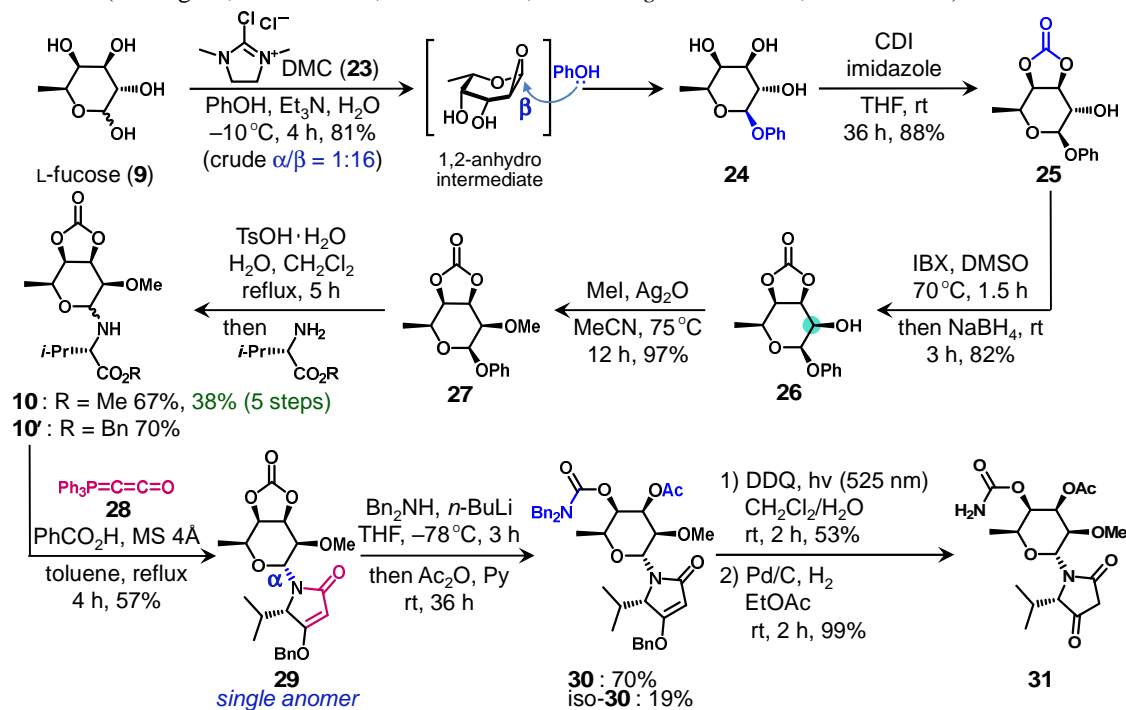
構造活性相関研究のために、Aユニット単体の合成を実施した。L-フコースに対して、グリコシル化と環状オルトエステル化で得られたグリコシド体において、主生成物である β -グリコシド体(15)を続く変換に用いた。15の2位ヒドロキシ基を酸化と還元で立体反転した後、メチル化した(15→16→17)。17を酸で処理したところ、反応初期には4''-O-アセチル体(18)も相当量生成したが、反応時間の経過に伴いアセチル基の転移が進行し、所望の3''-O-アセチル体(19)が熱力学的に安定な生成物として得られた。19にイソシアネート試薬を用いてカーバメート基を導入した後、TiBr₄でアノマー位を加水分解することでAユニット(22)の合成を完了した(Y. Meguro, Y. Taguchi, M. Enomoto, S. Kuwahara, *Tetrahedron Lett.* **2022**, *100*, 153891.)。



ABユニットの合成

上記と同様に構造活性相関研究に用いるため、ABユニットの合成も実施した。L-フコースに

対する DMC を用いた 選択的グリコシル化により 24 を調製した後、環状カーボネート化して 25 とした。25 から酸化と還元で 2-位ヒドロキシ基を立体反転し、メチル化して 27 を合成した。27 のアノマー位の加水分解と L-バリンメチルエステルとの N-グリコシル化で、1 の全合成の中間体である 10 を 5 工程(38%)で合成することに成功した。一方、27 の加水分解後に L-バリンベンジルエステルとの N-グリコシル化を行った後、Bestmann ylide を用いることで B ユニットを構築した(17 10 29)。29 の環状カーボネートをジベンジルアミンから調製したりチウムアミドを作用させることでカーバメート基を導入した。最後に Bn 基を除去して、AB ユニットの合成を完了した(Y. Meguro, M. Enomoto, S. Kuwahara, *Eur. J. Org. Chem.* **2023**, e202300075.)。



Scheme 3. Synthesis of AB unit (**31**).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4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 Meguro Yasuhiro, Ito Junya, Nakagawa Kiyotaka, Kuwahara Shigefumi	4. 巻 144
2. 論文標題 Total Synthesis of the Broad-Spectrum Antibiotic Amycolamicin	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 5253-5257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.2c00647	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 -
1. 著者名 Meguro Yasuhiro, Taguchi Yuka, Enomoto Masaru, Kuwahara Shigefumi	4. 巻 100
2. 論文標題 Synthesis of amykitanose, an O-carbamoyl sugar component of the antibiotic amycolamicin	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 153891 ~ 153891
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2022.153891	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 Yokokawa Hinata, Ishizawa Seiya, Saito Katsuya, Meguro Yasuhiro, Kuwahara Shigefumi, Enomoto Masaru	4. 巻 26
2. 論文標題 Total Synthesis of Aculenes B and D	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 European Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 e202201482
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ejoc.202201482	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 Meguro Yasuhiro, Enomoto Masaru, Kuwahara Shigefumi	4. 巻 26
2. 論文標題 Synthesis of the N Amykitanosyl Tetramic Acid Moiety of Amycolamicin	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 European Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 e202300075
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ejoc.202300075	査読の有無 無
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9件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 目黒康洋, 伊藤隼哉, 仲川清隆, 桑原文文
2. 発表標題 Amycolamicinの全合成
3. 学会等名 第120回有機合成シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 目黒康洋, 伊藤隼哉, 仲川清隆, 桑原文文
2. 発表標題 抗生物質amycolamicinの全合成
3. 学会等名 第64回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 半澤瑛一, 目黒康洋, 武田圭太, 榎本賢, 桑原文文
2. 発表標題 Macrotermycin Aの全合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会 2022年度 北海道・東北支部 合同支部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 久慈航平, 川本美咲, 目黒康洋, 桑原文文
2. 発表標題 Burnettramic acid Aの合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会 2022年度 北海道・東北支部 合同支部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 目黒康洋, 田口優佳, 榎本賢, 桑原重文
2. 発表標題 抗生物質amycolamicinのAおよびABユニットの合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会 2022年度 北海道・東北支部 合同支部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 目黒康洋
2. 発表標題 前例のないハイブリッド構造と新規な作用機序を有する広域抗生物質amycolamicinの全合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会東北支部シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 目黒康洋, 榎本賢, 桑原重文
2. 発表標題 広域抗生物質AmycolamicinのAおよびABユニットの合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 久慈航平, 川元美咲, 目黒康洋, 榎本賢, 桑原重文
2. 発表標題 Burnettramiac acid Aの全合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 目黒康洋, 桑原重文
2. 発表標題 広域抗生物質amycolamicinの全合成
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会 大会シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------