

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K14835

研究課題名(和文) 多剤耐性菌に対して抗菌活性を有する含アジリジン天然物の合成と構造活性相関研究

研究課題名(英文) Synthesis and structure-activity relationship studies of aziridine-containing natural products with antimicrobial activity against multidrug-resistant bacteria

研究代表者

岡村 仁則 (Okamura, Hironori)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・助教

研究者番号：80845785

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：MRSAを含む多剤耐性菌に対し高い抗菌活性を有する含アジリジン天然物である ficellomycinは、新規抗菌剤として有望な候補分子である。しかしながら、その構造希少性及び立体構造が未確定であるゆえに臨床開発研究は停滞している。本研究では、ficellomycin及びその類縁体 vazaitide Aの効率的合成法の確立と立体化学決定を目指した。「不安定なアジリジン構造の終盤での一挙構築」を鍵戦略としてその実現を目指したが、前駆体である1,2-ジアミン構造の構築が当初の予想に反し困難を極めた。今後、得られた中間体に対し鍵反応である閉環メタセシスを行い縮環アジリジン構造の構築へと展開していく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬剤耐性菌の出現以来、MRSAのように殆どの抗生物質が通用しない多剤耐性菌に対する新規抗菌剤の探索は世界規模での課題である。本研究では多剤耐性菌に対し有力な抗菌活性を示す ficellomycinの世界に先駆けた合成と立体化学決定を目的として合成研究に取り組んだ。従来のアプローチでは手の届かない「極性官能基が組み込まれた縮環アジリジン構造」の取得には至らなかったものの、その前駆体である1,2-ジアミン構造の構築を達成した。今後、前駆体から目的とする構造を有する化合物が得られれば、ficellomycinのみならず強力な抗腫瘍活性を有する類縁天然物 azinomycin 類の合成への展望が拓ける。

研究成果の概要(英文)：Ficellomycin, an aziridine-containing natural product with a potent antibacterial activity against multidrug-resistant bacteria including MRSA is a promising candidate molecule as a novel antimicrobial agent. However, its structural rarity and undetermined absolute stereochemistry have stalled clinical development research. In this study, we aimed to develop an efficient synthetic method of ficellomycin and its analog vazabitide A to determine these stereochemistry. The key strategy of this study was "late-stage construction of unstable fused-aziridine structure of these natural products", but the preparation of its precursor was unexpectedly difficult. Based on this study, the fused-aziridine structure will be constructed by ring-closure metathesis of the intermediate of this study.

研究分野：天然物化学

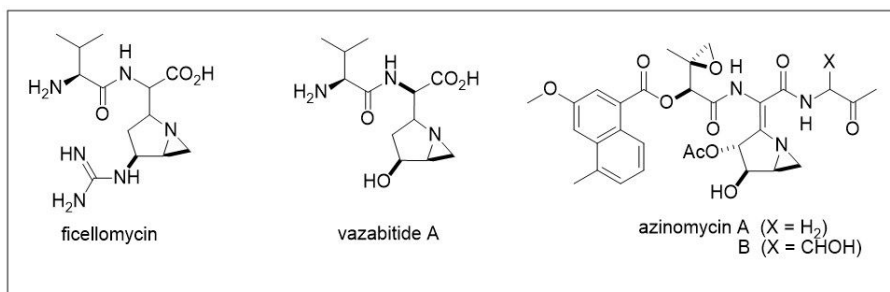
キーワード：アジリジン 天然物 抗菌活性 全合成 構造活性相関

### 1. 研究開始当初の背景

度重なる薬剤耐性菌の出現により、いつの時代も新規抗生物質の探求は常に要求され続けている。特に、MRSAのように殆どの抗生物質が効かない多剤耐性菌に対しては、新たな作用機序で働く抗菌剤を見出す必要がある。

放線菌由来の天然物 ficellomycin は、多剤耐性菌を含む幅広いグラム陽性菌に対して *in vitro* で高い抗菌活性を示しつつ、低毒性である(マウスにおけるストレプトマイシン耐性黄色ブドウ球菌に対する  $CD_{50} = 10 \text{ mg/kg}$  に対し、 $LD_{50} = \text{約 } 800 \text{ mg/kg}$ 、*J. Antibiot.* **1976**, *29*, 1001)。

そのため、MRSA を始めとする多剤耐性菌に対する有望な候補分子として期待できる。一方で、含窒素三員環であるアジリジン環を含むその構造希少性及び不安



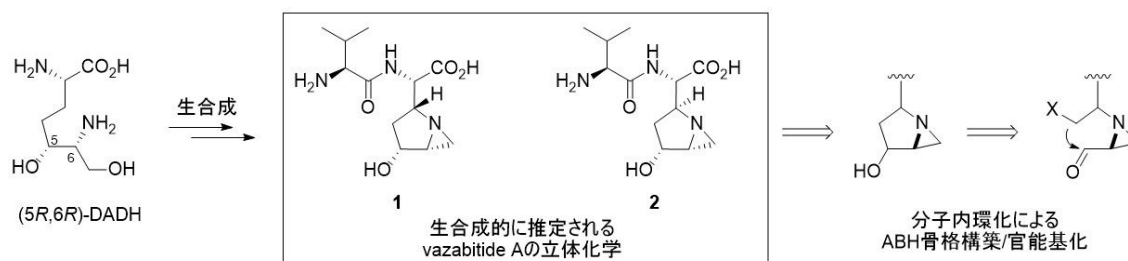
定性ゆえに、本天然物の合成法は確立されておらず醗酵生産による量的供給も実現困難である。更には、主骨格である 1-azabicyclo[3.1.0]hexane (ABH) 構造部分の絶対立体配置は決定されておらず、本化合物が示す生物活性の詳細な理解の妨げとなっている。これらの背景から、ABH 構造を創薬標的とする臨床開発研究は停滞している。

### 2. 研究の目的

本研究では、有機合成化学的アプローチを基盤とする「官能基化された ABH 構造の効率的な取得法の確立」と、それに基づく「多剤耐性菌に対する新規抗菌剤開発の基盤構築」を目的としている。目的達成のために、筆者は放線菌由来の含 ABH 天然物 ficellomycin 及びその類縁体 vazabotide A を標的とした合成研究を立案した。標的化合物の全合成により極性官能基を備えた ABH 構造の構築法を確立し、絶対立体配置の決定及び誘導体創製へと展開することで ficellomycin が示す特異な抗菌活性の活性発現因子をあぶり出すことが出来ると考えた。また、本研究は ABH 骨格上に極性官能基が更に密集した複雑天然物 azinomycin 類の合成への足掛かりともなる。Azinomycin 類はマウス悪性リンパ腫細胞に対する極めて強力な細胞毒性及び DNA 二重鎖のアルキル化に基づくユニークな抗腫瘍活性を示す。一方でその絶対立体配置は ficellomycin 同様に未決定であり、合成例も 1 例のみである。本研究の最終的な到達目標は、azinomycin 類の新規抗がん剤への創薬応用への展望を拓くことである。

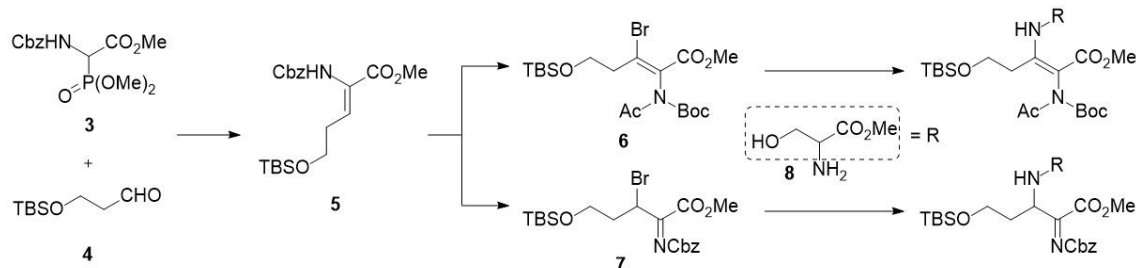
### 3. 研究の方法

過去の ABH 構造の合成研究においては、基質の適用範囲に制限があり骨格上に極性官能基を備えた基質の獲得手段は皆無であった。ABH 骨格そのものの歪みの大きさに加えて、アジリジン環に隣接する極性官能基の脱保護が極めて困難であるためである。この問題に対して、筆者は合成終盤に ABH 骨格の構築と官能基導入を一挙に行うアプローチを立案した。即ち、アジリジン環を先に形成したのち、隣接する酸素官能基を足掛かりとしてピロリジン環の閉環を行うという合成戦略である。また、標的天然物において不明である ABH 構造の立体化学については、全てを化学合成するのは非合理的であるため、生合成的視点から候補分子を絞り込むこととした。非タンパク質構成アミノ酸(5*R*,6*R*)-DADH が vazabotide A の生合成中間体であることから、vazabotide A の 4 つの不斉中心のうち 3 つは DADH の立体化学を保持しているものと考え、候補分子を 1 および 2 の 2 つに絞り込んだ。まずはこれらを区別せず合成することで基本骨格の合成法を確立するとともに立体化学を確定し、そこから派生して ficellomycin の合成が達成できると考えた。

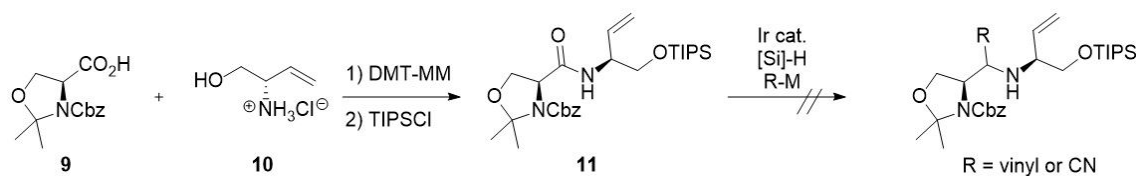


#### 4. 研究成果

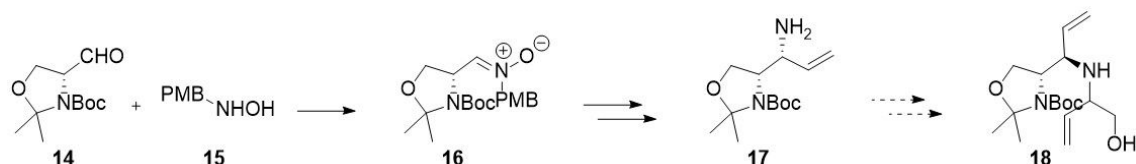
ホスホネート **3** とアルデヒド **4** を連結して得られるデヒドロアミノ酸 **5** に対し、臭素化のちセリンユニットの導入を試みた。種々条件検討の結果、デヒドロアミノ酸保護体 **6** または  $\alpha$ -ブロモイミン **7** に対しセリンメチルエステル **8** を付加できた。しかしながら、これらに対し続く二重結合の還元とアジリジン形成は進行しなかった。そこで、合成戦略を見直すこととした。



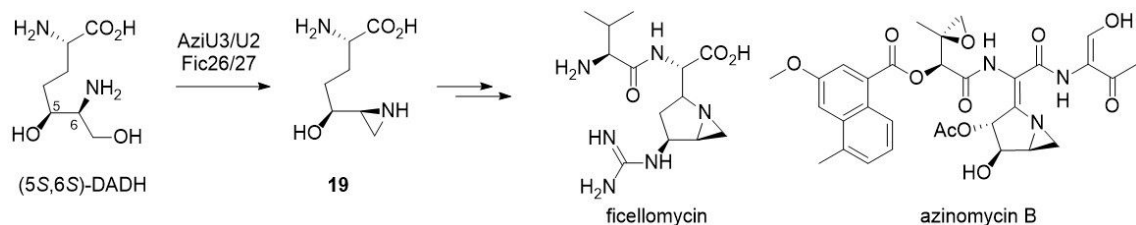
カルボン酸 **9** とアミノアルコール **10** とを DMT-MM を用いて縮合してアミド **11** とした後、ヒドロキシ基の保護の後イリジウム触媒を用いる還元的アルキル化反応によって炭素鎖導入を検討した。炭素源及び触媒を種々検討したが、所望のアミド部位ではなくカルボン酸 **9** に由来するカルバメート部分のカルボニル基が反応していることが示唆された。以上の通り、ABH 構造に至る前駆体である 1,2-ジアミン構造の構築が予想に反して困難であることが判明したため、再度合成計画を見直した。



問題となっている 1,2-ジアミン構造は、Garner アルデヒド **14** とヒドロキシアミン **15** とを縮合して得られるニトロソ **16** に対し、有機金属種の求核付加によって高収率及び高い立体選択性にて得ることが出来た。得られた **17** から、パラジウム触媒を用いたアリル位アミノ化反応を適用し、環化前駆体 **18** を合成できると考えている。



一方で、ficellomycin の生合成中間体が  $(5R,6R)$ -DADH の立体異性体である  $(5S,6S)$ -DADH であることを合成化学的に明らかとした。筆者が確立した手法に基づいて合成した  $(5S,6S)$ -DADH が ficellomycin 及び azinomycin の生合成酵素に基質として取り込まれアジリジン環が形成されたアミノ酸 **19** が得られたことから、これまで不明であった ficellomycin 及び azinomycin 類の ABH 構造部分の絶対立体配置のうち、一部は前駆体である DADH の立体化学を保持していると推定された。この結果から、ficellomycin や azinomycin が示す特異な生物活性が、ABH 構造部分の絶対立体配置に起因する可能性が示唆された。今後、これらの天然物が有する生物活性の構造活性相関を明らかにするためには、非天然型の立体化学を有する誘導體との生物活性の比較が必要となる。本研究にて筆者が開発した、1,2-ジアミン構造を前駆基質とする ABH 構造へと至る合成経路が確立されれば、出発原料由来の不斉点を足場に任意の立体化学を有する ABH 骨格を取得することが可能となる。その実現のためには、C3 単位のアミンへの導入および閉環による骨格構築法の確立が課題である。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6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 Kurosawa Sumire, Hasebe Fumihito, Okamura Hironori, Yoshida Ayako, Matsuda Kenichi, Sone Yusuke, Tomita Takeo, Shinada Tetsuro, Takikawa Hirosato, Kuzuyama Tomohisa, Kosono Saori, Nishiyama Makoto	4. 巻 144
2. 論文標題 Molecular Basis for Enzymatic Aziridine Formation via Sulfate Elimination	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 16164 ~ 16170
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.2c07243	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 Wakabayashi Takatoshi, Moriyama Daisuke, Miyamoto Ayumi, Okamura Hironori, Shiotani Nanami, Shimizu Nobuhiro, Mizutani Masaharu, Takikawa Hirosato, Sugimoto Yukihiro	4. 巻 13
2. 論文標題 Identification of novel canonical strigolactones produced by tomato	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1 ~ 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2022.1064378	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 Kurosawa Sumire, Okamura Hironori, Yoshida Ayako, Tomita Takeo, Sone Yusuke, Hasebe Fumihito, Shinada Tetsuro, Takikawa Hirosato, Kosono Saori, Nishiyama Makoto	4. 巻 18
2. 論文標題 Mechanisms of Sugar Aminotransferase-like Enzymes to Synthesize Stereoisomers of Non-proteinogenic Amino Acids in Natural Product Biosynthesis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ACS Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 385 ~ 395
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchembio.2c00823	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 Uchida Kiyono, Ogura Yusuke, Okamura Hironori, Sugimoto Yukihiro, Takikawa Hirosato	4. 巻 120
2. 論文標題 Novel and efficient stereoselective synthesis of (±)-orobanchol, a representative canonical strigolactone, based on acid-mediated cascade cyclization	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 154454 ~ 154454
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2023.154454	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 Ono-Ogasawara Chinatsu, Yamamoto Shunya, Ogura Yusuke, Okamura Hironori, Takaba Kiyofumi, Yoshida Satoshi, Sato Sota, Yonekura Koji, Takikawa Hiroto	4. 巻 127
2. 論文標題 Synthesis of (±)-zeapyranolactone, a noncanonical strigolactone isolated from maize, and determination of its overall relative configuration	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 154695 ~ 154695
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2023.154695	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 Kurosawa Sumire, Okamura Hironori, Yoshida Ayako, Tomita Takeo, Sone Yusuke, Hasebe Fumihito, Shinada Tetsuro, Takikawa Hiroto, Kosono Saori, Nishiyama Makoto	4. 巻 18
2. 論文標題 Mechanisms of Sugar Aminotransferase-like Enzymes to Synthesize Stereoisomers of Non-proteinogenic Amino Acids in Natural Product Biosynthesis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ACS Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 385 ~ 395
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchembio.2c00823	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9件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 岡村 仁則, 小倉 由資, 滝川 浩郷
2. 発表標題 Stagonosporyne類の合成研究
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 小笠原千夏, 山本舜也, 岡村仁則, 小倉由資, 滝川浩郷
2. 発表標題 Zeapyranolactoneの合成研究
3. 学会等名 第66回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 繁定拓舞 , 岡村仁則 , 小倉由資 , 滝川浩郷
2. 発表標題 独自の生合成仮説に基づくロータスラクトンの合成研究
3. 学会等名 第66回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内田 聖乃 , 小倉 由資 , 岡村 仁則 , 滝川 浩郷
2. 発表標題 orobancholの新規立体選択的合成
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 菅原 憲二 , 岡村 仁則 , 小倉 由資 , 滝川 浩郷
2. 発表標題 Calyxoside類の合成研究
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 小笠原 千夏 , 小倉 由資 , 岡村 仁則 , 滝川 浩郷
2. 発表標題 zeapyranolactoneの合成と相対立体配置の決定
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 菅原憲二 , 岡村仁則 , 小倉由資 , 松永茂樹 , 滝川浩郷
2. 発表標題 Calyxoside類の単離,構造決定と合成
3. 学会等名 第65回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 内田聖乃 , 小倉由資 , 岡村仁則 , 滝川浩郷
2. 発表標題 電子環状反応を基盤としたorobancholの合成研究
3. 学会等名 第67回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 内田聖乃 , 小倉由資 , 岡村仁則 , 滝川浩郷
2. 発表標題 電子環状反応を基盤としたorobanchol類の合成
3. 学会等名 日本農芸化学会2024年度大会
4. 発表年 2024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
---------	---------