

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03810

研究課題名(和文) 強力な抗感染症作用を持つ特異構造天然物の全合成と構造活性相関・化学生物学への展開

研究課題名(英文) Synthetic studies on anti-infective natural products with unique structures for developing new categories of medicinal drugs

研究代表者

桑原 重文 (Kawahara, Shigefumi)

東北大学・農学研究科・教授

研究者番号：30170145

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：薬剤耐性菌に対する強力で広範な抗菌作用を持つ天然物amycolamicinとnonthmicin及び低毒性で強力な抗トリパノソマ活性を持つ天然物actinoallolide Aの全合成研究を行なった。A-D, 5つの構成ユニットからなるamycolamicinについては、Aユニット、CDEユニットの合成に成功した。actinoallolide Aについては、THF環含有12員環マクロリド部位と側鎖部位の合成を達成した。両化合物とも全合成の最終段階にある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

amycolamicinのDユニット合成において、新規なピニルリチウム試薬を開発し、ケトンへの高立体選択的付加を実現した。また、デカリン構造を有するCユニットの分子Diels-Alder反応では、保護基の有無がジアステレオ選択性及び収率に大きく影響すること、actinoallolide AのTHF環内包型12員環マクロリド構造の構築にアシルケテン法が有効であることを見出した。各種類縁体の合成に応用可能な全合成の完成まであとわずかであり、構造活性相関を通じた新規医薬の開発に貢献できると考える。

研究成果の概要(英文)：Total synthetic studies on amycolamicin and nonthmicin, natural products with potent and broad-spectrum antibacterial activity against various drug-resistant bacteria, as well as actinoallolide A, a natural product with potent anti-trypanosomal activity, were conducted for the purpose of developing new categories of anti-infective drugs. The A, C, D, and E units of amycolamicin have been synthesized and the assembly of the C, D, and E units has been successfully achieved. The final stage of the total synthesis is now under progress. The 12-membered macrolactone part and the side chain moiety of actionallolide A have also been synthesized and the completion of the total synthesis by Suzuki-Miyaura coupling of the two parts is now underway.

研究分野：有機合成化学

キーワード：amycolamicin actinoallolide A nonthmicin 抗菌薬 抗寄生虫薬 全合成

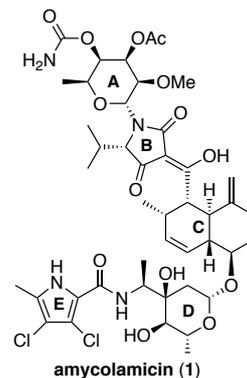
## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

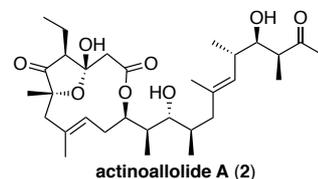
ペニシリンに始まる抗生物質の創出は人々を感染症の脅威から解放したかに見えたが、それもつかの間、相次ぐ薬剤耐性菌の出現→対応策としての既存薬の構造微改変→耐性菌の更なる高耐性化(いわゆる“スーパーバグ”の出現)という負のスパイラルにより、人類は新たな脅威に晒されている。今まさに、交差耐性を生じにくい新規な構造と作用機序を持ち、新しいカテゴリーの抗生物質の起点となり得る化合物の開発が急務となっている。また、リーシュマニア症やトリパノソーマ症に代表される原虫(真核単細胞微生物)による感染症においても、感染域の拡大と薬剤抵抗性原虫の増加が報告され、特に発展途上国では深刻な問題となっている。本研究では、強力な抗菌活性/抗原虫活性と特異な化学構造を有し、新規抗感染症薬開発の起点となり得る可能性を持つ **amycolamicin** と **nonthmicin**, 及び強い抗トリパノソーマ活性を示し、且つ低毒性の **actinoallolide A** 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した。

### 2. 研究の目的

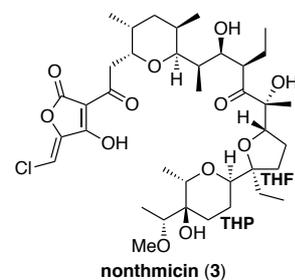
**amycolamicin (1)** は稀少放線菌 *Amycolatopsis* sp. MK575-fF5 及び *Kibdelosporangium* sp. MA7385 が生産する抗生物質である。過去に類例の無い全く新規な化学構造を有し、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌、バンコマイシン耐性腸球菌を始め、極めて広範なグラム陽性・陰性の薬剤耐性菌に対して強力な抗菌作用を示す。**1** の標的タンパク質は細菌の DNA 合成必須酵素である DNA gyrase の GyrB subunit 及び topoisomerase IV の ParE subunit であり、それらの N 末端ドメインと **1** の共結晶 X 線解析から、**1** は同じ標的を持つ既存のクマリン系抗生物質とは全く異なる、新規な結合様式を持つことが判明した。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、マウスに対する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抗生物質リードとして大きな注目を集めている。さらに、2つの新規単糖ユニット(A, D)と3つの構造ユニット(B, C, D)が連なった構造は、有機合成化学の見地からも極めて挑戦的な合成標的である。申請者は、誘導体合成にも柔軟に対応できるユニット構築法や保護基の使用を抑えた短工程糖鎖変換法を開拓して **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に基づく構造活性相関研究を通して、より有効で実用的な抗菌薬の創製に繋げることを目標とした。



**actinoallolide A (2)** は放線菌 *Actinoallomurus fulvus* MK10-036 が生産する極めて強力な抗トリパノソーマ活性物質である。トリパノソーマ症は *Trypanosoma* 属原虫を病因とする人畜共通感染症の総称であり、特にアフリカ睡眠病(アフリカ中部域で発生)とシャーガス病(中南米で発生)が大きな脅威となっている。前者はツェツェバエが媒介する *T. brucei* が、後者はサシガメが媒介する *T. cruzi* が病因原虫となる。先進国地域ではほとんど発生しないため、治療薬は僅かしかなく、効果が限定的であったり副作用の強いものも含まれる。近年、シャーガス病の感染域拡大と薬剤耐性原虫の増加も報告され、既存薬の問題点を克服する新薬の開発が急務となっている。**2** はトリパノソーマ症の各種病因原虫に対して極低濃度で活性を示し、細胞毒性もないことから、安全性の高い治療薬リードとしての期待が高まっているが、薬剤としての安定性には問題が残る。**2** は THF 環を内包した 12 員環マクロリド型天然物の初例であり、有機合成化学の見地からも挑戦に値する合成標的である。申請者は **2** の初の全合成を達成するとともに、構造活性相関研究へと展開し、安定性と高活性を兼備した薬剤の開発に繋げることを目的とした。



**nonthmicin (3)** は稀少放線菌 *Actinomadura* sp. K4S16 が生産する抗生物質である。グラム陽性菌に対する強力な抗菌作用を有するほか、癌細胞浸潤阻害、神経細胞モデル PC12D 細胞の MPP<sup>+</sup> 誘導細胞死の抑制、オートファジー亢進という多彩な生理活性を示し、複数の標的タンパク質の存在を暗示している。**3** の構造的特徴は、分子右下(南東部位)の THF/THP 連続環構造と前例のない塩素含有メチレンテトラロン酸構造(西側部位)の存在である。申請者は、類縁体合成にも融通の効く収束的合成戦略を立案して **3** の初の全合成を達成し、最終的には、化学生物学的研究へと展開して、好適な薬理特性を持つ抗菌剤の開発へと繋げることを目的とした。



### 3. 研究の方法

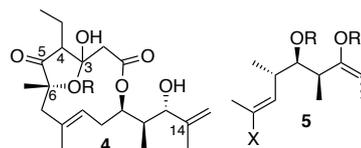
#### (1) **Amycolamicin (1)** の合成研究

まず、新規単糖ユニット A、デカリンユニット C、新規アミノ糖ユニット D と E ユニットの複合ユニット( DE ユニット)を調製した後に、C ユニットと DE ユニートをグリコシル化反応で連結して CDE 複合ユニットを得る。最後に、B ユニートを形成させながら、A ユニットと

CDE ユニットの結合して amycomamicin (1) の全合成を達成するという基本戦略を立てた。C ユニットの、分子内 Diels–Alder 反応を用いて構築する方法を採用した。

### (2) Actionalolide A (2) の合成研究

分子をラクトン環部 4 と側鎖部 5 に分けて、それぞれを調製し、両者を Suzuki–Miyaura カップリングを用いて連結することで 2 を合成する基本戦略を立てた。4 位のエチル基の不斉は、最終的に、熱力学的に安定な  $\beta$  配置に収束することを期待した。また、14 位のメチル基の不斉については、Suzuki–Miyaura カップリングにおけるヒドロホウ素化の際に、13 位水酸基の不斉により誘導できるものと考えた。一方、4 の 6 位の四置換不斉中心は、Seebach の不斉アルキル化により、4 のその他の不斉中心および 5 の不斉中心は、Evans 不斉アルドール反応およびビニロガス向山アルドール反応を用いて構築することとした。



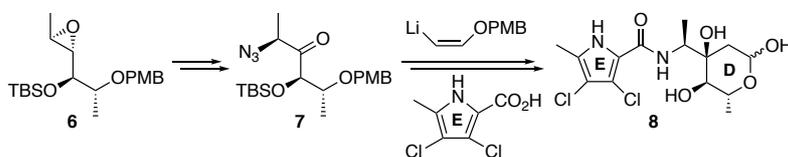
### (3) Nonthmicin (3) の合成研究

分子をクロロメチレンテトラヒドロ酸部位（西側部位）、THP 環を有する北側部位、THF/THP 連続環構造を持つ南東部位に分けてそれぞれを調製し、まず、北側部位と南東部位をスルホンカップリングにより連結した後、西側部位とのアシル化反応に付すことで、全合成を完成させる方策を立てた。

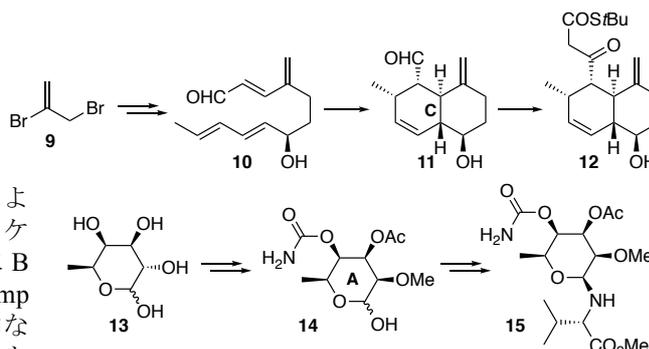
## 4. 研究成果

### (1) Amycomamicin (1) の合成研究

D-乳酸メチルから導いたエポキシド 6 のアジドアニオンによる開環を経由して 7 を得た後、新規に開発したビニルリチウム

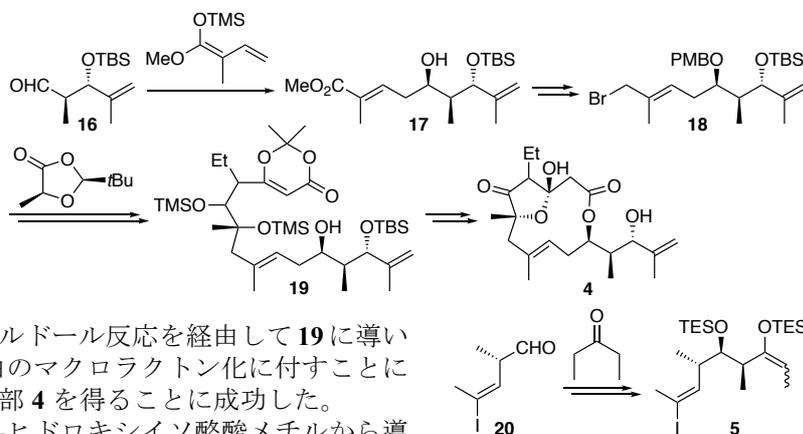


試薬のケトンに対する高ジアステレオ選択的付加、別途調製した E ユニットとの縮合などにより DE ユニット 8 を得ることができた。デカリン構造を有する C ユニット 11 は、9 に対する各種の増炭反応を経て調製した 10 の分子内 Diels–Alder 反応が Lewis 酸触媒により高収率で進行することを見出し、大スケールでの合成に成功した。さらに、11 に B ユニットの一部分となる二炭素を Roskamp 反応を用いて増炭して 12 を得た。温和な反応条件下で C ユニットと DE ユニットの連結させることにも成功し、既に CDE ユニットの調製法を確立している。また、CDE ユニットの二炭素増炭も達成した。A ユニット 14 は、L-ブコース 13 から、環状オルトエステルの開環を利用した高位置選択的アセチル化反応を開発して合成に成功した。さらに B ユニットの一部分となる L-バリンメチルエステルとの高ジアステレオ選択的 N-グリコシル化により 15 に導いた。二炭素増炭した CDE ユニットと 15 の連結は確認しているため、amycomamicin (1) の全合成の達成まであと数工程を残すのみとなっている。



### (2) Actionalolide A (2) の合成研究

Evans 不斉アルドール反応を用いて調製した 16 に対するビニロガス向山アルドール反応が極めて高収率・高ジアステレオ選択的に進行することを見出し、17 を得た。17 を臭化物 18 に変換後、Seebach 不斉アルキル化反応、環状ケテンアセタールを用いるアルドール反応を経由して 19 に導いた。19 をアシルケテン経由のマクロラクトン化に付すことにより、高収率でラクトン環部 4 を得ることに成功した。

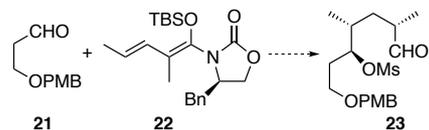


側鎖部 5 の調製は、(R)- $\beta$ -ヒドロキシイソ酪酸メチルから導いた 20 と 3-ペンタノンとのジアステレオ選択的アルドール反応により達成した。

側鎖部 5 とラクトン環部のモデル基質を用いた Suzuki–Miyaura カップリングには、すでに成功しており、現在、4 と 5 のカップリングの反応条件を検討している。成功すれば、actinoallolide A(2) の全合成の完成まで、残すは、脱保護のみとなる。

### (3) Nonthmicin (3)の合成研究

現在、北側部位の調製を行っている。基質 **21**, **22** の調製を完了し、両者の遠隔不斉誘導により、THP 環構造の前駆体である **23** の合成について、種々検討中である。南東部位の調製にも着手している。



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 Meguro Yasuhiro, Ogura Yusuke, Enomoto Masaru, Kuwahara Shigefumi	4. 巻 84
2. 論文標題 Synthesis of the N-Acyl Amycolose Moiety of Amycolamicin and Its Methyl Glycosides	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 7474 ~ 7479
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="http://dx.doi.org/10.1021/acs.joc.9b00650">http://dx.doi.org/10.1021/acs.joc.9b00650</a>	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6件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 十和田諒, 桑原重文
2. 発表標題 抗トリパノソーマ活性を有するactinoallolide Aの合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会2018年度大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Meguro Yasuhiro, Kuwahara Shigefumi
2. 発表標題 Synthesis of the N-Acyl Amycolose Moiety of Amycolamicin and Its Methyl Glycosides
3. 学会等名 258th ACS National Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 目黒康洋, 桑原重文
2. 発表標題 Amycolamicinの全合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020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
連携研究者	五十嵐 康弘 (Igarashi Yasuhiro) (20285159)	富山県立大学・工学部・教授  (23201)	
連携研究者	小倉 由資 (Ogura Yusuke) (50750139)	東北大学・農学研究科・助教  (11301)	