

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K05465

研究課題名(和文) 見過ごされていた立体選択的反応の開発を起点とする薬剤耐性菌克服に関する研究

研究課題名(英文) Research on overcoming drug-resistant bacteria by starting with the development of stereoselective reactions that have been left unnoticed

研究代表者

矢島 新 (Yajima, Arata)

東京農業大学・生命科学部・教授

研究者番号：30328546

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)：本研究では新規な3つの立体選択的反応、1)不斉ジヒドロキシ化による立体選択的ヒドロキシ基の導入と炭素鎖伸張法の開発、2)  $\beta$ -リボフラノシドの立体選択的合成法の開発、3) 酵素法によるキラルビルディングブロックの合成について全て実現することができた。開発した反応を用いていくつかの生物活性天然物の合成への応用について展開し、ピサボラン型セスキテルペン類、violaceoid類の合成を達成した。また、amphidinの配糖化部位の合成や、北側部位の合成にも成功した。さらに酵素反応の検討による知見を生かし、zealexin類の合成への展開にも成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

病原性微生物に対する薬剤の開発には新奇な作用機構を見いだすことが重要となっている。また、抗生物質の乱用により発生した多剤耐性菌の問題解決のために、いかに選択的に標的の微生物を制御するかが重要である。そこで、ユニークな抗菌スペクトルを有する化合物を起点とし、構造活性相関や化学生物学的研究により、新奇抗菌薬の開発に繋げるための基礎研究を展開することが本研究の意義である。研究対象とした両化合物群の合成を通じ、様々な化合物の合成に適用可能な方法論を開発することに成功し、有機合成化学的に価値が高い成果をあげることができた。続いて、合成品の構造活性相関研究への展開にも貢献することができた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated three novel stereoselective reactions: 1) stereoselective introduction of hydroxy groups and carbon chain elongation by asymmetric dihydroxylation, 2) stereoselective synthesis of  $\beta$ -ribofuranosides, and 3) synthesis of chiral building blocks by enzymatic methods. We succeeded in achieving all of them. The developed reactions were applied to the synthesis of several biologically active natural products, and the synthesis of bisabolane-type sesquiterpenes and violaceoids was achieved. We also succeeded in synthesizing the glycosylation moiety of amphidin and the northern moiety. Furthermore, we have successfully developed the synthesis of zealexins by utilizing the knowledge obtained from the enzymatic reactions.

研究分野：天然物化学

キーワード：有機合成化学 天然物合成化学 不斉合成

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ヒトやその他の生物に病気を引き起こす病原性微生物に対し、現代では抗菌作用を有する薬剤を用いた対処療法が一般に用いられている。しかし、この手法では原理的に必ず耐性菌の出現が問題となることから、新奇な抗菌活性発現機構を見いだすことが益々重要になってきている。そこで筆者はユニークな抗菌スペクトルを有する amphidinin 類と peniciaculin 類に着目した。Amphidinin 類は水虫などを引き起こす白癬菌に対して、peniciaculin 類はアブラナ科植物に対して黒斑病を引き起こす黒斑病菌に対して高い選択性で抗菌活性を示すことが報告されている。これらの化合物の合成研究、続く化学生物学的研究を起点として、難治性病原性微生物を制御する新奇抗菌剤(抗真菌剤)を開発するための基礎的知見が得られるのではないかと考えた。

また、これらの化合物を合成するにあたり、既存の合成反応の組み合わせに終始せず、新しい立体選択的反応の開発を行うことは、基礎研究としての有機合成化学の見地から見て高い価値を同時に生み出すことができるのではないかと考えた。

### 2. 研究の目的

本研究は新規合成反応の開発からスタートして、生物学的現象の詳細を解明するという化学的、生物学的に重要な問題を順次解決することを目的とした。特に 3 つの新規合成反応を開発することで、あるようで無かった今まで見過ごされてきた反応を実現することを目指すこととした。3 つの新規合成反応を駆使することにより、様々な生物活性天然有機化合物を網羅的に合成することが可能となる。amphidinin 類、peniciaculin 類という構造的に大きく異なる分子を同一の手法を用いて合成可能である汎用性の高さを特徴とし、化学プローブ分子を迅速につくりだすことができることから、生物学的な研究領域へ展開可能であると考えた。

### 3. 研究の方法

本研究では新規な 3 つの立体選択的反応を開発することから開始した。

#### (1) 不斉ジヒドロキシ化による立体選択的ヒドロキシ基の導入と炭素鎖伸張

従来この手法を行う際は末端アルケンが用いられていたが、保護基の利用、ヒドロキシ基の酸化など余分な工程が必要であることや、そもそも立体選択性に乏しいという問題点を抱えていた。そこで筆者は、脱離基をアリル位に有するアルケンの不斉ジヒドロキシ化、続く Julia 型反応により、光学活性アリルアルコールを高い鏡像異性体純度で合成する手法を開発する。

#### (2) $\gamma$ -リボフラノシドの立体選択的合成法

5 位にアシル基を導入した基質を用いることにより、その置換基効果を利用した簡便な操作による  $\gamma$ -選択的リボフラノシド合成法を確立する。

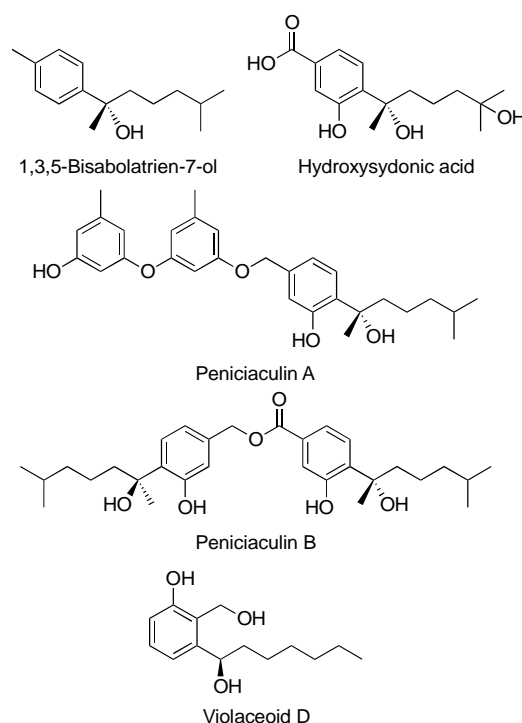
#### (3) 酵素反応による光学分割

既知のケトンから容易に調製可能なラセミ体のヒドロキシエステルを光学分割することにより分子の左右で酸化段階が異なる、かつてなかった便利な分子を創製する。

### 4. 研究成果

(1) 本研究では新規な 3 つの立体選択的反応を開発することを第 1 の課題として設定していた。まず、不斉ジヒドロキシ化による立体選択的ヒドロキシ基の導入と炭素鎖伸張法の開発においては、末端にヨウ化ビニル部位を有する化合物の不斉ジヒドロキシ化を検討した。合成した末端ビニルヨウ化物に対して Sharpless 不斉ジヒドロキシ化、続いて生じたアルデヒド基に対する炭素鎖の伸長反応は円滑に進行し、非常に高い鏡像体純度を有するアリルアルコール類を合成可能であることを示すことができた。続いて、本反応の基質一般性および立体選択性について明らかにすることができた。

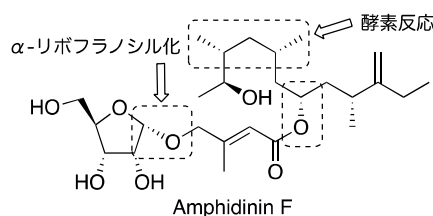
次に高い鏡像体純度を有する第 3 級アルコール類合成の基質一般性について確認した。その結果芳香環に様々な置換基を有している場合であっても、ほぼ鏡像体純度を損なうことなく光学活性アリルアルコール類を合成可能であることを見いだした。その手法を適用することでアブラナ科植物黒腐病菌に対する抗菌活性を有する peniciaculin A および B の全合成を達成するとともに、天然物の絶対立体配置が提出構造と相違な



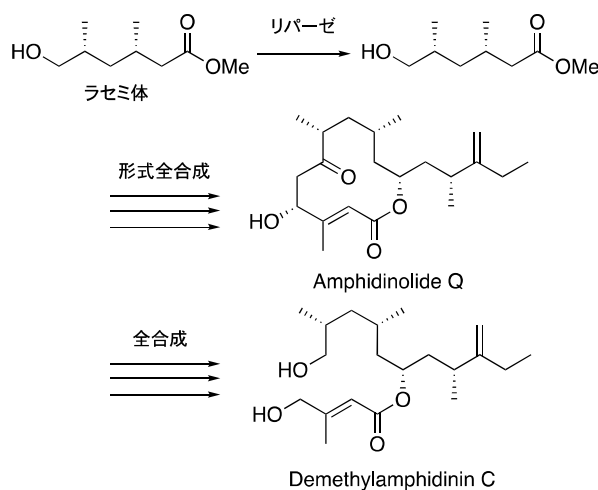
いことを確認することができた。また、peniciaculin A の全合成の過程においては、その部分構造として天然に広く存在が認められている diorcinol があることから、その簡便な合成法についても検討し、Pd 触媒を用いる手法にて高効率にて合成可能な手法を見いだした。確立した立体選択的ジヒドロキシ化を鍵段階とする光学活性アリルアルコール類の合成法を用いて基質一般性についてさらに検討し、様々な基質に本手法が適用可能であることを立証できた。その手法を適用することで hydroxysydonic acid や 1,3,5-bisaboratrien-7-ol の合成を達成した。Hydroxysydonic acid については天然物の絶対立体配置の決定が曖昧であったが、高い鏡像体純度での合成を通じて確かな物性を測定することができた。1,3,5-bisaboratrien-7-ol についてはウコンかの香気成分としての報告があることから、香気特性について評価した結果、両鏡像体間で有意な特性の差が認められることを見いだした。それらの結果についてまとめた論文の発表に至り、その論文は掲載号の表紙として選出されるなど高い評価を受けることができた。

ピサポラン型セスキテルペン類の効率的合成法を開発に続いて、さらなる応用を指向して異なる化合物群の合成に取り組んだ。Aspergillus violaceofuscus より単離が報告されているアルキルフェノール類である violaceoid 類に着目し、側鎖部位のエナンチオ選択的構築について検討した。その結果、不安定な第二級アルコール類を極めて温和な条件にて合成することに成功し、続く交差メタセシスにより側鎖部位を伸長することで violaceoid D の全合成を達成した。合成品と天然物の比旋光度の比較により、未決定であった天然物の絶対立体配置を明らかにすることができた。また、本手法では側鎖部位を交差メタセシスにより導入していることから、様々な骨格を有するアルケンを用いることで自在に violaceoid D の側鎖部位の改変が可能であった。数種の類縁化合物を簡便に合成することが可能であり、構造活性相関研究へ展開することができた。生物活性試験ではまず、細胞毒性について検討し、側鎖部位の立体化学、炭素鎖の長さが細胞毒性に影響を与えることを明らかにした。

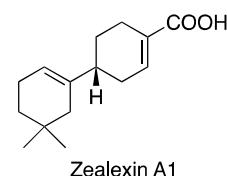
(2) 次に、 $\alpha$ -リボフラノシドの立体選択的合成法の開発については、リボース 5 位にアシル基を導入した基質を用いることにより、その置換基効果が期待通りに働き、簡便な操作による  $\alpha$ -選択的リボフラノシド合成法を確立することができた。特に 5 位に Piv 基を導入した基質は合成収率、立体選択性共に満足のいくものであった。ただし、5 位 Piv 基を持つ基質では、目的とする amphidinolide 類の全合成においては脱保護に問題があることが明らかとなった。



(3) Amphidinolide 類の全合成研究において、酵素によるラセミ合成中間体の光学分割については市販の容易に入手可能なリパーゼを用いて最高 er >95:5 という高い立体選択性を実現することができた。得られた化合物を用いることで抗腫瘍活性を有する amphidinolide Q や monensine といった生物活性天然物の形式合成を達成した。続いて、得られた光学活性中間体から amphidinolide の北部位の合成について検討した。第二級ヒドロキシ基の立体制御については、イリジウム触媒を用いる不斉アリル化反応により、ほぼ完全な立体選択性で全ての立体化学を制御した北部位の合成法を確立することができた。本手法はほぼ全ての段階が高収率で進行していることから、様々な化合物の合成中間体を供給することができる手法であると考えている。アシル基部位を連結することで、amphidinolide 類を網羅的に合成する手法の開発に繋がる重要中間体の合成に成功している。天然物としての報告はない化合物ではあるが demethylamphidinolide C の合成には成功している。



また、酵素反応に関する知見を生かし、トウモロコシファイトアレキシンである zealexin 類の合成研究に役立てることができた。今後は合成した様々な化合物群について抗菌活性試験を行うことで、薬剤耐性菌の制御に通じるリード化合物の発見を目指していく。



Zeaxalin A1

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Arata Yajima, Izumi Shirakawa, Nanami Shiotani, Kazuya Ueda, Hazuki Murakawa, Tatsuo Saito, Ryo Katsuta, Ken Ishigami	4. 巻 92
2. 論文標題 Practical synthesis of aromatic bisabolanes: Synthesis of 1,3,5- bisabolatrien-7-ol, peniciaculin A and B, and hydroxysydonic acid	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 132253
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tet.2021.132253	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 Yajima Arata, Shimura Mikaho, Saito Tatsuo, Katsuta Ryo, Ishigami Ken, Huffaker Alisa, Schmelz Eric A.	4. 巻 2021
2. 論文標題 Synthesis and Determination of Absolute Configuration of Zealexin A1, a Sesquiterpenoid Phytoalexin from Zea mays	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 1174 ~ 1178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ejoc.202001596	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 該当する

1. 著者名 Shoji Atsushi, Arai Yuka, Asakawa Ryuki, Saito Tatsuo, Kuramochi Kouji, Yajima Arata	4. 巻 87
2. 論文標題 Synthesis and structure-activity relationship of violaceoid D, a cytotoxic alkylated phenol isolated from <i>Aspergillus violaceofuscus</i> Gasperini	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 363 ~ 370
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbac212	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 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 庄司 篤史、荒井 佑香、浅川 竜輝、斉藤 竜男、倉持 幸司、矢島 新
2. 発表標題 Violaceoid Dの全合成および構造活性相関
3. 学会等名 日本農芸化学会関東支部大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 庄司 篤史、荒井 佑香、浅川 竜輝、斉藤 竜男、倉持 幸司、矢島 新
2. 発表標題 Violaceoid Dの全合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会 2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 志村美夏帆, 矢島 新, 勝田 亮, 石神 健, 額田恭郎
2. 発表標題 Zealexin A1の合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会 2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 矢島 新, 志村美夏帆, 勝田 亮, 石神 健, 額田恭郎
2. 発表標題 トウモロコシのファイトアレキシン zealexin A1 の不斉合成と絶対立体配置
3. 学会等名 日本農薬学会 第46回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 志村美夏帆, 矢島 新, 勝田 亮, 石神 健, 額田恭郎
2. 発表標題 Zealexin A1の合成研究
3. 学会等名 第63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 2019年

1. 発表者名 小野寺壮太, 渡邊侑李, 曾根実奈美, 斉藤竜男, 勝田亮, 石神健, 矢島新
2. 発表標題 Amphidinin Cの合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会 2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 塩谷七洋, 白川和泉, 上田一哉, 村川葉月, 斉藤竜男, 勝田亮, 石神健, 矢島新
2. 発表標題 黒斑病菌に対する抗菌活性を有するpeniciaculin類の不斉全合成
3. 学会等名 日本農薬学会 第47回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 白川和泉, 矢島 新, 勝田 亮, 石神 健, 額田恭郎
2. 発表標題 ウコンに由来する芳香族ピサボラン型セスキテルペンの不斉合成と香気特性
3. 学会等名 第62回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 矢島新
2. 発表標題 光学活性アリルアルコール類の合成手法の開発と天然物合成への応用
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会(招待講演)
4. 発表年 2019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
---------	---------