

令和 3 年 5 月 14 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06554

研究課題名(和文)新規天然有機化合物を基盤としたアムホテリシンB活性増強剤の創製研究

研究課題名(英文)Development of amphotericin B potentiators based on novel natural products

研究代表者

大多和 正樹(Ohtawa, Masaki)

北里大学・薬学部・准教授

研究者番号：70453503

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：北里大学薬学部において見出された、深在性真菌症の治療薬である amphotericin B の活性増強剤であるFKI-4981Bならびにshidoamideの化学的供給ならびに立体配置の決定を目的とし、全合成研究に着手した。FKI-4981Bの 3, 5および 13位の立体化学は、ヨウ化サマリウム()と不斉補助基を用いた立体選択的な Reformatsky反応を用いることで構築し、 α -マンノシド部位を導入することで、FKI-4981Bのすべてのジアステレオマーの合成を可能とする包括的な合成経路の構築に成功し、全てのジアステレオマーを合成することでFKI-4981Bの絶対立体配置を決定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Amphotericin B (AMPB) は深在性真菌症に対する治療薬の第一選択であるものの、最大の欠点は副作用の重篤さである。そのため新たなAMPBの副作用軽減策の開発が急務である。北里大学薬学部において見出されたFKI-4981Bならびにshidoamideは天然由来のAMPB活性増強物質であり、これらをリード化合物する、これまでにないAMPBの副作用軽減する薬剤開発が望まれる。本研究成果にてそれを可能とする基盤を築くことができ、今後の研究により有望なAMPB活性増強物質が創出されることが期待される。

研究成果の概要(英文)：The total synthesis of FKI-4981B, a new potentiator of amphotericin B activity against *Candida albicans*, was achieved. Our research results enabled the access of all stereoisomers of FKI-4981B and the elucidation of the unknown absolute configuration of FKI-4981B. Furthermore, one of the stereoisomers is a better amphotericin B potentiator than FKI-4981B and is an excellent lead compound for the development of a novel amphotericin B potentiator.

研究分野：薬学系化学

キーワード：天然物合成化学 活性増強物質

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Amphotericin B (AMPB) は 1960 年代初頭から臨床に導入され、現在でも深在性真菌症に対する治療薬の第一選択であるものの、最大の欠点は副作用の重篤さである。そのため AMPB の副作用軽減を目的とした脂質製剤が開発され現在臨床で用いられているものの、非常に高価なため汎用性があるとは言い難く、新たな AMPB の副作用軽減策の開発が急務である。現在その一例として AMPB 活性増強剤が注目されている。AMPB 活性増強剤は AMPB と併用することでその活性を増強させ、結果として AMPB の用量低減に伴う副作用の軽減が期待できる。これまでに 3 種の AMPB 活性増強物質が報告されているものの、それらは単独で抗真菌活性を示すだけでなく、その AMPB 活性増強効果も満足行くものではないことから、新たなリード化合物の発見が望まれている。

そのような背景のもと、北里大学薬学部において AMPB 活性増強物質のスクリーニングが行われた結果、真菌 *Simplicillium* sp. FKI-4981 株より新規天然有機化合物 FKI-4981B (1) (特開 2012-175955) が、また未同定真菌 BF-0158 株より shodoamide C (2) が単離、同定された (Figure 1)。FKI-4981B (1) はアグリコンに脂肪酸ユニットを持つ β -マンノシド構造を有しているが、アグリコンの 3 つの不斉炭素の立体化学は不明である。一方 2 は共役 (*Z,E*)-ジエナミド及び連続するトリオール構造を有しており、こちらもいずれの不斉炭素の立体化学は明らかになっていない。これらは濃度依存的に AMPB 活性を増強し、AMPB 共存下 64 $\mu\text{g/mL}$ では、抗真菌活性をそれぞれおよそ 20 倍近く増強するものの、1 及び 2 単独では抗真菌活性を示さない。即ち、これらは AMPB 活性増強作用のみを有する世界初の化合物であると共に、創薬リード化合物としても極めて有望であると言える。しかしながらこれらは低生産性であり、天然物を用いた未知の立体配置の決定や創薬を指向した誘導化等は困難であるといった問題がある。

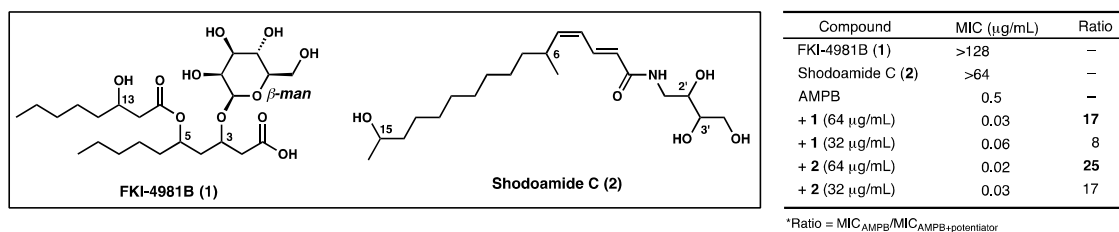


Figure 1. The structures and potentiation of AMPB activity of FKI-4981B (1) and shodoamide C (2).

2. 研究の目的

本研究では上述の問題を有機合成化学的手法にて解決を図り、AMPB 活性増強作用を示す新規天然有機化合物、FKI-4981B (1) ならびに shodoamide C (2) を基盤とした AMPB 活性増強剤の開発を目指す。

3. 研究の方法

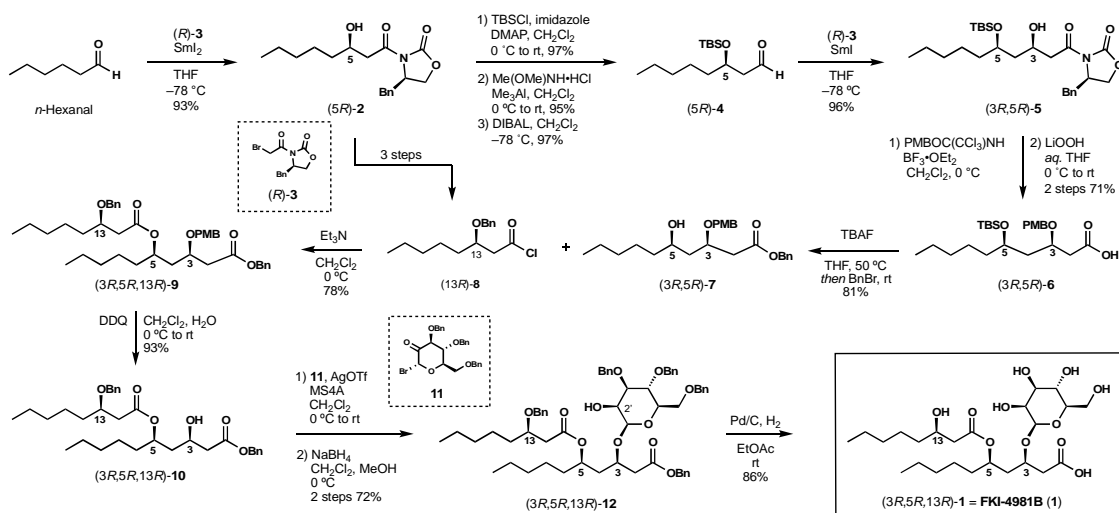
まず全合成的手法により 1 及び 2 の全てのジアステレオマーを合成し、未知の立体配置の決定を行う。その後合成したジアステレオマー群を化合物ライブラリーとして用い、構造活性相関を検討し、天然物から導くことの出来ない新規アナログや構造簡略型誘導体、キメラ型誘導体等の創製を行う。そして適宜得られる構造活性相関の知見を適切に加味した誘導体の設計/合成/活性評価のサイクルを繰り返し、1 及び 2 を基盤とした強力かつ大量合成可能な AMPB 活性増強剤の構造最適化を行う。最終的に強力な AMPB 活性増強剤 (5 $\mu\text{g/mL}$ の添加で 100 倍の AMPB 活性増強を目標とする) の創製と特許取得、その後のライセンスアウトを最終目標とする。

4. 研究成果

1) FKI-4981B (1) の全合成並びに絶対立体配置の決定

まず、計 8 種のジアステレオマーのうち (3*R*,5*R*,13*R*)-1 を標的化合物として合成経路の確立を目指し、3, 5 および 13 位の立体化学は、ヨウ化サマリウム (II) とキラルな 3 を用いた立体選択的な Reformatsky 反応を用いることで構築することとした。*n*-Hexanal を出発原料として、前述の Reformatsky 反応を行い立体選択的に (5*R*)-2 を得た。次に生じた 5 位ヒドロキシ基の TBS 化、ワインレブアミドへの変換、DIBAL 還元を経て (5*R*)-4 とした後、2 度目の Reformatsky 反応を行い立体選択的に (3*R*,5*R*)-5 へと導いた。続いて 3 位ヒドロキシ基を PMB 基で保護した後、TBS 基の脱保護、ベンジルエステル化を one-pot で行うことで (3*R*,5*R*)-7 と

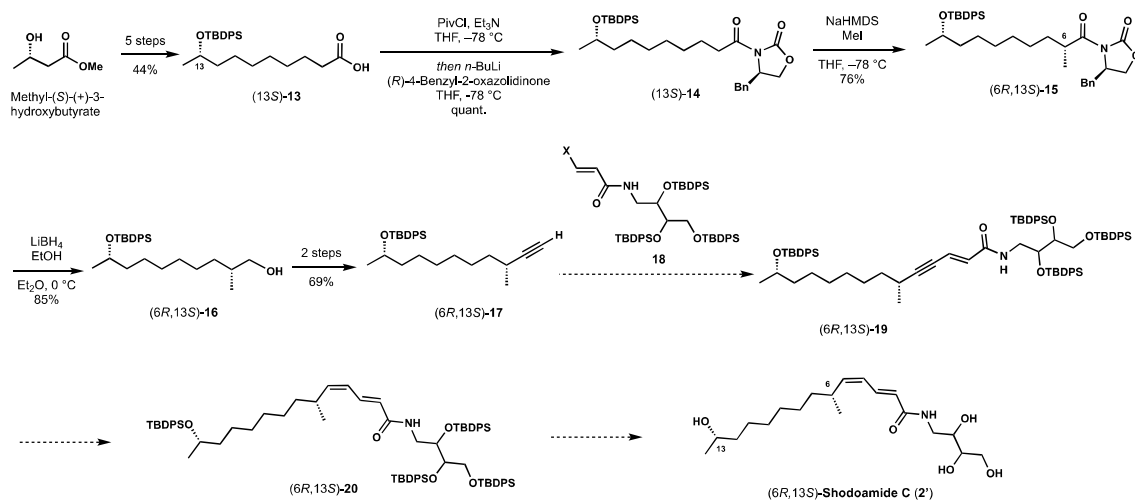
し、中間体 (5R)-2 から 3 工程で導いた (13R)-8 とのアシル化後、PMB 基を除去することにより、アグリコンユニット (3R,5R,13R)-10 を得た。次に銀トリフラート存在下、ウロシルプロミド **11**³ との β -マンノシル化後、2'位の還元を経て、 β -マンノシドを有する (3R,5R,13R)-12 を合成することができた。最後に全ての保護基を一挙に脱保護することで (3R,5R,13R)-1 の全合成を達成すると共に、**1** の全てのジアステレオマーの合成を可能とする包括的な合成経路の構築にも成功した。続いて本経路を応用し、全てのジアステレオマー (計 8 種) を合成し、それらの構造解析を行った。その結果、(3R,5R,13R)-1 と天然物の **1** の各種スペクトルが全て一致し、simpotentin (**1**) の絶対立体配置の決定を行うことができた。また合成した 8 種のジアステレオマーの活性評価を行ったところ、(3R,5S,13S)-1 が天然物に比べより強力な AMPB 活性増強作用を有することが明らかになった。今後は(3R,5S,13S)-1 を基盤とした創薬研究を展開する予定である。



Scheme 1. Synthesis and absolute configuration of FKI-4981B (**1**).

2) Shodoamide C (**2**) の全合成研究

Shodoamide C (**2**) は計 16 種の考えうるジアステレオマーが存在するが、まずはカルボン酸側鎖側の構造を決定することとし、(6R,13S)-2' を標的化合物として合成経路の確立を目指すこととした。市販の methyl-(S)-(+)-3-hydroxybutyrate を出発原料とし、TBDPS 保護、DIBAL 還元、TEMPO 酸化、Wittig 反応、水素添加反応を経て、5 工程収率 44% でカルボン酸 (13S)-13 を得た。次に不斉補助基の導入を経て定量的に (13S)-14 とし、続いて立体選択的なメチル化により (6R,13S)-15 を収率 76% で合成した。その後 (6R,13S)-15 のオキサゾリジノン基を除去して (6R,13S)-16 とした後、2 工程を経てアルキン (6R,13S)-17 とした。今後は、別途合成した八口ゲン化アミド **18** との菌頭カップリングと続く Lindlar 還元により (Z,E)-ジエン **9** へと導き、種々官能基変換を通じて (6R,13S)-2' の合成を達成したいと考えている (Scheme 2)。合成経路の構築後は、合成経路を応用することで全種類のジアステレオマー群の合成を行い、shodoamide C (**2**) の絶対立体配置の決定を行う予定である。



Scheme 2. Synthetic study on (6R,13S)-shodoamide C (**2**).

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 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ohtawa Masaki, Shimizu Eri, Saito Atsushi, Sakamoto Sayuri, Waki Ai, Kondo Ariko, Yagi Akiho, Uchida Ryuji, Tomoda Hiroshi, Nagamitsu Tohru	4. 巻 21
2. 論文標題 Total Synthesis and Absolute Configuration of Simpotentin, a Potentiator of Amphotericin B Activity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 5596 ~ 5599
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.9b01945	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 Lee Daiki, Kondo Hiroki, Kuwayama Yui, Takahashi Kento, Arima Shiho, Omura Satoshi, Ohtawa Masaki, Nagamitsu Tohru	4. 巻 75
2. 論文標題 Total synthesis of 4-epi-atpenin A5 as a potent nematode complex II inhibitor	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 3178 ~ 3185
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tet.2019.02.050	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 Ohtawa Masaki, Yano Keisuke, Miyao Atsuyoshi, Hiura Tohru, Sugiyama Kouhei, Arima Shiho, Kita Kiyoshi, Omura Satoshi, Nagamitsu Tohru	4. 巻 60
2. 論文標題 Structure-activity relationship studies of atpenin A5 analogs with chemical modification of the side chain moiety	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 1037 ~ 1042
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2019.03.026	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 Baker Meghan A., Demoret Robert M., Ohtawa Masaki, Shenvi Ryan A.	4. 巻 575
2. 論文標題 Concise asymmetric synthesis of (-)-bilobalide	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 643 ~ 646
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-019-1690-5	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 Demoret Robert M., Baker Meghan A., Ohtawa Masaki, Chen Shuming, Lam Ching Ching, Khom Sophia, Roberto Marisa, Forli Stefano, Houk Kendall N., Shenvi Ryan A.	4. 巻 142
2. 論文標題 Synthetic, Mechanistic, and Biological Interrogation of Ginkgo biloba Chemical Space En Route to (-)-Bilobalide	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 18599 ~ 18618
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.0c08231	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 Liu Xiaojun, Jiang Yingjun, Nowak Billie, Ichikawa Satoshi, Ohtawa Masaki, Matsuda Akira, Plunkett William	4. 巻 85
2. 論文標題 Repair of DNA damage induced by the novel nucleoside analogue CNDAG through homologous recombination	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Chemotherapy and Pharmacology	6. 最初と最後の頁 661 ~ 672
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00280-020-04035-x	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

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Masaki Ohtawa, Ryuji Uchida, Hiroshi Tomoda, Tohru Nagamitsu
2. 発表標題 Total synthesis and absolute configuration of simpotentin, a potentiator of amphotericin B activity
3. 学会等名 258th ACS National Meeting & Exposition (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大多和正樹、李大葵、内田龍児、供田洋、長光亨
2. 発表標題 Amphotericin B活性増強作用を有するsimpotentinの全合成と絶対立体配置の決定
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大多和 正樹、長光 亨
2. 発表標題 Simpotentinの全合成と絶対立体配置の決定
3. 学会等名 第41回白金シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大多和正樹、清水恵里、齋藤淳、李大葵、近藤あり子、八木瑛穂、小林啓介、内田龍児、供田洋、長光亨
2. 発表標題 Amphotericin B活性増強作用を有するsimpotentinの全合成と絶対立体配置の決定
3. 学会等名 第44回反応と合成の進歩シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大多和正樹
2. 発表標題 構造の複雑な天然物の効率的な合成法の構築を目指して
3. 学会等名 日本薬学会第141年会（招待講演）
4. 発表年 2021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
---------	---------