

令和 6 年 9 月 30 日現在

機関番号： 11301
研究種目： 国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(A））
研究期間： 2021～2023
課題番号： 20KK0345
研究課題名（和文） 耐性菌発生リスクの低い抗菌剤の創出に向けたクオラムセンシング阻害剤の合成と応用

研究課題名（英文） synthetic study of a naturally-occurring quorum sensing inhibitor and its application to developing a novel antibacterial agent with low risk of generating drug resistant bacteria

研究代表者
榎本 賢（ENOMOTO, Masaru）

東北大学・農学研究科・教授

研究者番号： 90546342
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 7,000,000円
渡航期間： 7ヶ月

研究成果の概要（和文）：本研究では、(1) *Chromobacterium violaceum* に対して QS 阻害活性を示すノルセスキテルペン aculene 類、および (2) *Staphylococcus aureus* の天然由来 QS 阻害物質である leiotiomycene 類の合成、およびその応用を志向した合成化学的研究を実施した。このうち、致死性の高い日和見感染症を引き起こすグラム陰性菌 *C. violaceum* の QS 阻害活性を示す aculene 類の合成研究については、aculene C と B の初の全合成を達成した。本研究成果は欧州化学会が発行するレビュー雑誌 ChemistryViews で紹介された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬剤耐性菌が発生しにくい治療薬を創成する取り組みは人類にとって喫緊の課題となっている。クオラムセンシング（QS）は菌がシグナル物質を分泌・感知することにより同種他個体の生育密度を感知する機構であり、これにより病原因子等の産生に関わる遺伝子が制御されている。これを阻害する物質は、菌に選択圧をかけずに菌体間の交信を攪乱するため耐性菌が発生しにくいと考えられ、新たな感染症治療薬の候補化合物になる可能性がある。

本研究では、病原菌の QS 機構を阻害する天然有機化合物を新規感染症治療薬のリード化合物として利用することを志向して、それらの化学合成法の開発と応用研究に向けた有機合成化学的研究を実施した。

研究成果の概要（英文）：Quorum sensing (QS) is a chemical communication process between bacteria. Inhibitors of QS could prevent bacteria from causing disease without directly affecting bacterial growth, e.g., by influencing the expression of virulence factors and biofilm formation. In this research project, aiming at developing novel promising therapeutic agents which are less likely to induce drug-resistance, we studied chemical syntheses of naturally occurring QS inhibitors, aculenes and leiotiomycines. The former compounds exhibit QS inhibitory activity against the opportunistic pathogen bacterium *Chromobacterium violaceum* and the latter against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). As for the synthetic study of aculenes, norsesquiterpenoids isolated from the culture broth of *Aspergillus* sp. and that of *Penicillium* sp., we have accomplished the first total synthesis of aculenes B and D. This result was featured on ChemistryViews, the science news magazine of Chemistry Europe.

研究分野：天然物化学，有機合成化学

キーワード：quorum sensing inhibitor

様式 F-19-2

1. 研究開始当初の背景

薬剤耐性菌への対処は人類にとって喫緊の課題となっている。薬剤耐性菌が発生・拡大する原因の一つとして、特異性の低い抗菌剤によって様々な細菌に選択圧がかかることが挙げられる。従って、特異性の高い抗菌薬は標的菌以外には選択圧として作用しないため、種々の耐性菌が発生するリスクを低減できるはずである。このような着想に基づいて申請者は、薬剤耐性菌発生リスクを低減できる高特異的な抗菌剤や感染症治療薬の創出を目指している。

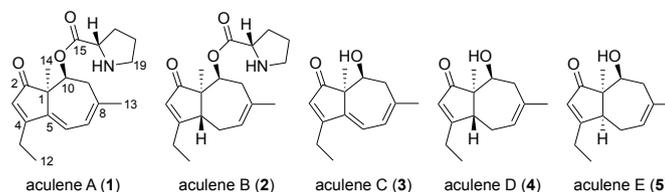
2. 研究の目的

菌は、クオラムセンシング (QS) と呼ばれる機構で、自己誘導因子 (オートインデューサー: AI) と呼ばれるシグナル物質を分泌・感知して自分と同種別個体の生育密度を感知している。つまり、AI は各菌にとって特異的な「言語」のようなもので、これによって感知した菌密度に応じて、バイオフィーム形成や病原因子生産といった現象に関わる遺伝子の発現が制御されている。QS を阻害する化合物はこの機構を攪乱することで、細菌の病原因子の生産を特異的に阻害できる。さらに種特異的に作用するだけでなく基本的に殺菌作用を示さないため、菌が選択圧にさらされない。このような特徴から、QS 阻害剤は薬剤耐性菌出現リスクの低い抗菌剤のリード化合物として期待されている。また、QS 阻害剤はその特異性を利用することによって別の薬剤のドラッグデリバリー物質として応用することも期待できる。そこで本申請研究では、(1) *Chromobacterium violaceum* に対して QS 阻害活性を示すノルセスキテルペン aculene 類、および (2) *Staphylococcus aureus* の天然由来 QS 阻害物質である leiotiomycene 類の合成、およびその応用を指向した合成化学的研究を実施した。

3. 研究の方法

(1) Aculene 類

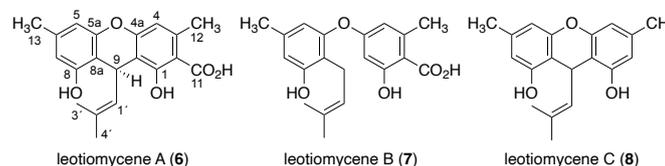
Aculene A-E (1-5) は糸状菌から単離・構造決定されたノルセスキテルペンであり、このうち 3, 4 および 5 についてはグラム陰性細菌 *C. violaceum* に対して QS 阻害活性を示すことが明らかにされている。この



細菌は致死率の高い日和見感染症を引き起こすことが知られており、**aculene** 類は本細菌に対する薬剤耐性を発生させにくい新規感染症治療薬になることが期待された。そこで本研究では、容易に入手可能な(-)-カンファーを原料にして、これらの天然物の合成と応用研究に向けた有機合成化学的研究を実施した。

(2) Leiotiomycene 類

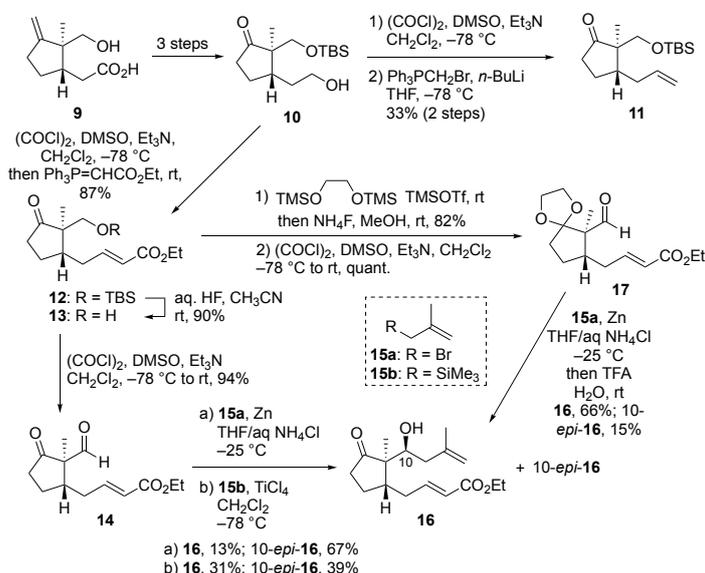
Leiotiomycene 類 (6-8) はビョウタケ目の真菌から単離・構造決定された化合物であり、プレニル化されたジレソルシノール骨格を有する。本化合物は、メシチリン耐性の *S. aureus* に対して QS 阻害活性を示し、特に 6 は強い活性を示す ($IC_{50} 0.3 \pm 0.1 \mu M$)。本化合物を利用した *S. aureus* に対する新規治療薬リード化合物の創出およびドラッグデリバリー化合物等への利用を目指して有機合成化学的研究を実施した。



4. 研究成果

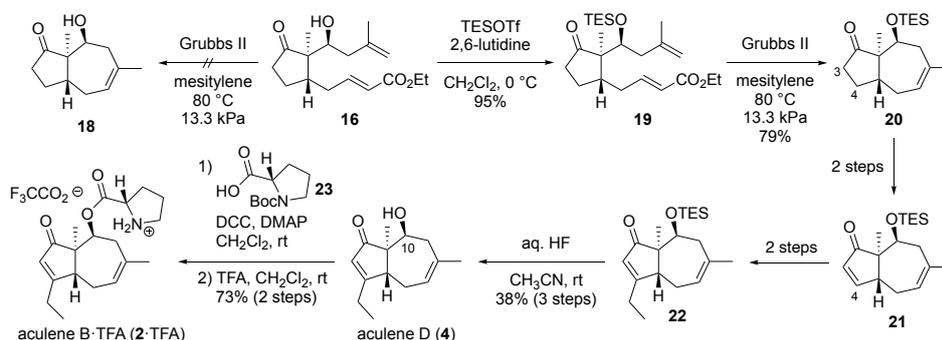
(1) Aculene 類の合成研究

(-)-カンファーから 5 工程で調製可能なヒドロキシカルボン酸 **9** を出発原料とし、さらに 3 工程の変換で **10** を得た。Aculene 類の分子構造右側の 7 員環を構築するためには、その足がかりとして、**10** の側鎖に二重結合を導入する必要があったので、当初は **10** から **11** の調製を試みたが低収率に留まった。そこで安定イリドを使用する Wittig 反応によって二重結合の導入を試みると **12** を満足できる収率で得ることができた。続いて、**12** の TBS 基を除去後、生じたアルコール **13** を酸化してアルデヒド **14** へと変換し、**14** に対するメタリル基のジアステレオ選択的な求核付



加反応を検討した。しかし、**15a**を用いた Barbier 反応や **15b**を使用した Hosomi–Sakurai 反応を種々の Lewis 酸を使用して検討したが、望む **16**を主生成物として得ることはできなかった。さらに不斉試薬を用いた検討も行ったが不首尾に終わった。そこで、**12**のケト基をアセタールで保護した **17**へと変換し、**17**に対して **15a**を用いた Barbier 反応とそれに続くアセタールの加水分解を行うと、メタリル化反応のジアステレオ選択性を逆転させることに成功し、**16**を収率 66%で合成することができた。

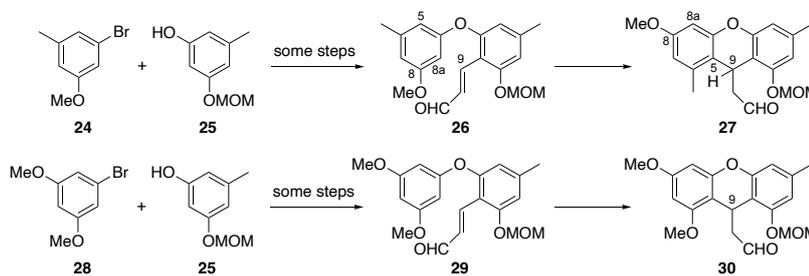
次に 7 員環の構築を試みた。まず、**16**を基質として閉環メタセシス反応を試みたが、**18**は得られず **16**を回収するの



みであった。この原因がカルボニル酸素とヒドロキシ基の水素結合により閉環メタセシスに不利な配座が優先しているためと考え、ヒドロキシ基が保護された **19**を用いて同様の条件で反応を行ったところ、収率良く反応が進行し 7 員環が構築された **20**を得ることができた。ここから 2 工程で 3,4 位に二重結合が導入された **21**へと変換し、さらに 4 位へのエチル基の導入とによって **22**を得た。**22**の TES 基をフッ化水素酸で脱保護することによって aculene (**4**)の世界初の全合成に成功した。さらに、**4**に **23**を縮合し、Boc 基を除去することで aculene B (**2**)についても全合成を達成した (*Eur. J. Org. Chem.* **2023**, e202201482.). 本研究成果は欧州化学会が発行するレビュー雑誌 ChemistryViews で紹介された (<https://www.chemistryviews.org/total-synthesis-of-aculenes-b-and-d/>). 今後は、10 位のヒドロキシ基の作り分けが可能であることを利用して 10 位エピマーを合成するなど、誘導体合成によって天然物を凌駕する活性を示す化合物の合成を目指すとともに、抗菌活性を示す他の化合物との連結等の応用を目指したい。

(2) Leotiomycene 類の合成研究

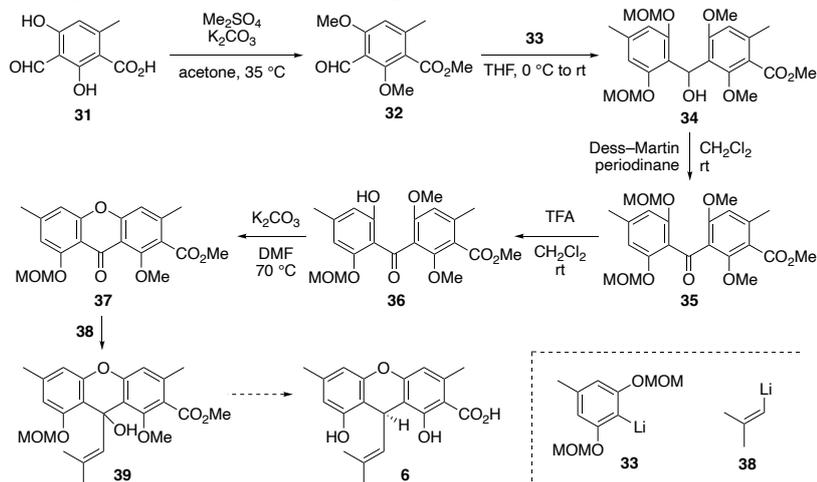
我々は leotiomycene 類の中でも最も強い QS 阻害活性を示す leotiomycene A (**6**)を標的化合物に設定し研究を開始した。まず、**24**と **25**から調製した **26**を基質とし、有機不斉触媒を用いて **6**の分子



構造に含まれる唯一の不斉炭素である 9 位の構築を検討した。しかしながら、**26**を用いた環化反応では望む 8a 位からの求核攻撃ではなく 5 位からの攻撃が進行し、5 位と 9 位が結合した形の化合物 **27**のみが得られることがわかった。この問題を避けるべく、**28**と **25**から **29**を調製し、**26**の場合と同様に有機不斉触媒を用いた環化反応を試みると収率良く **30**を得ることができた。しかしながら、**30**から **6**へと変換する経路を開拓できなかっただけでなく、環化反応のエナンチオ選択性が低かったことから、有機不斉触媒を用いて環化する経路を断念することにした。

求核付加反応による不斉点構築が難しかったため、不斉還元によって 9 位の立体化学をエナンチオ選択的に構築する経路を採ることにした。

まず、既知物質 **31**のフェノール性ヒドロキシ基とカルボキシ基をメチル化した後に、生じたアルデヒド **32**に有機リチウム試薬 **33**を求核付加させて **34**を得た。続いて、**34**をケトン **35**に酸化し、トリフルオロ酢酸 (TFA) を用いて一方の MOM 基のみを除去して **36**へと導いた。これを炭酸カリウ



ム (K_2CO_3) で処理すると、環化反応が進行し、キサントン骨格を有する化合物 **37** を収率良く合成することができた(詳細な反応条件, 収率等については未公表データのため記載を控える)。現在までに, **37** に有機リチウム試薬 **38** を求核付加させて, leotiomycene A (**6**) の全炭素が揃った **39** を得ている。今後, 9 位のエナンチオ選択的な還元と保護基の除去により **6** の全合成を達成する。その後は, 新規治療薬リード化合物の創出およびドラッグデリバリー化合物等への利用に向けた構造活性相関, そして応用へと展開していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 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 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 榎本賢 | 4. 巻 62 |
| 2. 論文標題 コロナ禍での英国留学 -ようやくつかんだ海外留学のチャンスは未曾有の状況下- | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 化学と生物 | 6. 最初と最後の頁 45-49 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1271/kagakutoseibutsu.62.45 | 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4件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 榎本賢 |
| 2. 発表標題 Synthetic studies on bioactive terpenoids |
| 3. 学会等名 2022年度 化学系学協会東北大会（招待講演） |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 横川 陽向, 石澤 誠也, 齋藤 克哉, 桑原 重文, 榎本 賢 |
| 2. 発表標題 Quorum sensing阻害物質aculene類の全合成研究 |
| 3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会（京都） |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Hinata YOKOKAWA, Seiya ISHIZAWA, Katsuya SAITO, Shigefumi KUWAHARA, Masaru ENOMOTO |
| 2. 発表標題 Total synthesis of aculene D, a norsesquiterpene showing quorum sensing inhibitory activity |
| 3. 学会等名 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2021) (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 榎本 賢 |
| 2. 発表標題 Aculene類およびalchivemycin類の合成研究 |
| 3. 学会等名 東京大学農学部有機化学研究室70周年記念シンポジウム (招待講演) |
| 4. 発表年 2023年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

| |
|---|
| <p>東北大学農学研究科生物有機化学分野 https://www.agri.tohoku.ac.jp/jp/laboratory/yuuki/ 東北大学農学研究科生物有機化学分野 https://www.agri.tohoku.ac.jp/yuuki/index.html</p> |
|---|

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 |
|-------------------|---------------------------------|--|----|
| 主たる渡航先の主たる海外共同研究者 | ディクソン ダレン (Dixon Darren) | オックスフォード大学・Department of Chemistry・Professor | |

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 | | | |
|---------|--------------------------|--|--|--|
| 英国 | The University of Oxford | | | |