

新規 β -リボシル化を鍵反応とする

(+) - カプラゾールの全合成および誘導体合成への展開

学位論文内容の要旨

1. はじめに

カプラザマイシン類 (CPZs) は、多剤耐性結核菌を含む抗酸菌属に対して強力な抗菌活性を示すヌクレオシド系天然物である。マウス肺結核モデルにおいても用量依存的な治療効果を示し、細胞毒性等の副作用を示さないことから、新規抗結核薬の候補化合物として注目されている。また、三つの不斉点を有する特徴的な7員環ジアゼパノンを中心に脂溶性側鎖、アミノリボース、ウリジンからなる特異で複雑な構造を有し、CPZs は有機合成化学的にも非常に魅力的な合成ターゲットである。著者はCPZs をリードとした新規抗菌薬の創薬を目的とし、活性発現に中心的な役割を果たしているCPZsの母核構造カプラゾールの全合成研究を行った。

ジアゼパノン環内第3級アミンの塩基性や、導入部が立体的に混雑した環境にあることから、ジアゼパノン構築後のグリコシル化反応によるアミノリボースユニットの導入は困難と考え、ジアゼパノン構築前にアミノリボースユニットを導入する合成戦略を立てた。なお、CPZsに含まれる β -リボシド結合は、一般的に糖供与体のアシル保護基の隣接基関与により構築できる。しかしながら、標的天然物が塩基性条件で容易に分解するため、リボシル化後のアシル保護基の除去に問題を有することが予想された。そこで著者は、糖供与体の α 面に導入した保護基の立体障害による β 選択性の発現を計画した。

2. 3-ベンチリデン保護糖供与体を用いる新規 β 選択的リボシル化反応の開発

酸性条件で除去可能なイソプロピリデン基を導入したフッ化糖を糖供与体として調製し、リボシル化反応を検討した。活性化剤のスクリーニングを行った結果、 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ を用いた場合に β 体が優先的に得られた。更なる立体選択性の向上を期待して、より高高い3-ベンチリデン基を導入した糖供与体を用いてリボシル化反応を行ったところ、 β 選択性 ($\beta/\alpha=16/1$) が大幅に向上した。次に、3-ベンチリデン保護糖供与体を用いる本反応の一般性を調べるために、様々な糖受容体に対するリボシル化反応を行った。その結果、 O -リボシル化反応では、第一級アルコールを糖受容体として用いた場合に若干の β 選択性の低下が観察されたが、 C -リボシル化反応では、多くの基質において高い β 選択性が発現した。立体選択性の発現機構を詳細に考察するために、密度汎関数法 (DFT) による構造最適化計算を行い 3-ベンチリデン保護糖供与体から生成するオキシカルベニウムイオン中間体の最安定構造を算出した。その結果、オキシカルベニウムイオン中間体は3位炭素原子が他の環内原子からなる平面より下がった E_3 配座をとっており、リボース環のひずみによって3-ベンチリデン基の末端 Me 基がリボース α 面の1位側に突出するため、 α 面からの求核攻撃に対し効果的な立体障害を作り出している事が示唆された。 C -リボシル化反応ではアシル基による隣接基関与が十分に機能しない事が一般的に知られており、本反応は β - C -リボシドを構築する際に非常に有効な手段となりうる。

3. (+)-カプラゾールの全合成

開発した β 選択的リボシル化反応を用いて5'- β - O -アミノリボシルグリシルウリジン鍵中間体を高立体選択的に合成した。ジアゼパノン部の構築には分子内還元的アミノ化反応を選択し、最適な環化条件を種々検討した結果、接触還元およびヒドリド還元を連続的に

行う環化法を確立し、良好な収率で望みとするジアゼパノン体を得た。種々官能基を変換後、最後に全ての保護基の除去を行い、(+)-カプラゾールの初の全合成を達成した。

4. FR-900493の全合成

FR-900493は、枯草菌より単離された広い抗菌スペクトルを有するヌクレオシド系抗生物質である。立体化学は明らかにされていないが、構造中にCPZsと同様の5'-β-O-アミノリボシルウリジン構造が含まれる。著者は、FR-900493もCPZsと同様の立体化学(5'S, 6'S)を有していると推測し、全合成的手法による立体構造の解明を目指しその合成研究に着手した。カプラゾール合成中間体から、還元的N-ジアルキル化反応を含む数行程で合成した化合物の機器データは、標品のもと完全に一致したことから、これまで未知であったFR-900493の全立体化学を明らかにすることが出来た。

5. パルミトイルカプラゾールおよびCPZs部分構造欠如誘導体の設計と合成

CPZsは、細菌細胞壁合成酵素MraYを阻害して抗菌活性を示す。全ての細菌に共通して存在する細胞内膜タンパクMraYは、生命維持に必須であり、本酵素を標的とする抗菌剤には優れた抗菌活性の獲得が期待できる。CPZsの活性発現には細菌細胞膜の透過が必要であり、脂溶性側鎖はその重要な鍵を握っている。そこで、カプラゾールに様々な脂溶性側鎖を導入することを視野に入れて、まずパルミトイル側鎖を有するパルミトイルカプラゾールの合成を計画した。さらに、ファーマコフォア探索を行うために、CPZs構造の各部分構造が欠如したウリジン部欠如およびアミノリボース部欠如アナログも設計した。

合成終盤での官能基変換を最小限にするために、合成に用いる各ユニットを適切に官能基化してそれらを合理的に縮合することで、ウリジンから16行程、総収率10.2%で天然型誘導体パルミトイルカプラゾールの合成に成功した。また、確立した誘導体合成経路を用いて部分構造欠如アナログの合成を完了した。

6. ジアゼパノン構造改変誘導体の設計と合成

CPZsのジアゼパノン骨格は、脂溶性側鎖とリボシルウリジン部間のscaffoldとして捉える事が出来る。著者は、創薬を視野に入れた誘導体合成を目指して、ジアゼパノン骨格を他の単純なscaffoldへ変換する計画を建てた。そこで、系統的かつ効率的な誘導体合成を行なうために、豊富な種類を持ち容易に入手可能なアミノ酸をscaffoldに組み込んだ非環状誘導体を設計した。アミノ酸としてセリンを用い、その側鎖の第一級水酸基を足がかりとして脂溶性残基を導入し、ジアゼパノン切断アナログとも見なす事が出来る非環状誘導体をパラレル合成した。さらに、非環状誘導体を分子内脱水縮合させて、ジアゼパノン骨格を他のヘテロ環構造2,5-ジケトピペラジンで置き換えた誘導体の合成を行った。

7. 抗菌活性評価とCPZs構造活性相関の検討

合成した誘導体について、寒天培地希釈法による各種一般病原菌に体する最小発育阻止濃度(MIC)の評価を行った。その結果、パルミトイルカプラゾールは薬剤耐性株(MRSA, VRE)を含むグラム陽性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを示すことが明らかとなった。また、その他の一般病原菌に対しても、天然物CPZ-Dとほぼ同等の抗菌活性を示すことが分かった。また、ジケトピペラジン誘導体よりも環切断誘導体の方がより強い抗菌活性を示した。

8. まとめ

著者は3-ペンチリデン保護糖供与体を用いる新規β-リボシル化反応を開発し、これを鍵反応としてカプラザマイシン主要骨格(+)-カプラゾールの初の全合成を達成した。また、共通の合成中間体を用いてFR-900493の全合成を行い、これまで未決定であった立体化学を明らかにした。さらに、パルミトイルカプラゾールの設計と合成を行い、これが多剤耐性菌(MRSA, VRE)を含む幅広い病原菌に対し抗菌活性を示す事を見いだした。この事は、MraYを標的とする新規抗菌剤の開発の有用性を示唆しており、さらなる創薬研究の可能性が期待できる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 松 田 彰
副 査 教 授 橋 本 俊 一
副 査 助 教 授 中 村 精 一
副 査 助 教 授 南 川 典 昭

学 位 論 文 題 名

新規 β -リボシル化を鍵反応とする

(+)-カプラゾールの全合成および誘導体合成への展開

カプラザマイシン類 (CPZs) は、多剤耐性結核菌を含む抗酸菌属に対して強力な抗菌活性を示すヌクレオシド系天然物である。マウス肺結核モデルにおいても用量依存的な治療効果を示し、細胞毒性等の副作用を示さない事から、新規抗結核薬の候補化合物として注目されている。著者は CPZs をリードとした新規抗菌薬の創薬を目的とし、活性発現に重要な CPZs の母核構造カプラゾールの全合成研究を行った。また、その合成法を基にして、FR-900493 の全合成も行い、従来不明であった立体化学を明らかにした。さらに、構造の単純化を目指し、種々の創薬化学展開を行ない、CPZs の構造—活性相関を明らかにした。

1. 3-ペンチリデン保護糖供与体を用いる新規 β 選択的リボシル化反応の開発

酸性条件で除去可能なイソプロピリデン基を持つフッ化糖を用いて、リボシル化反応を検討した。活性化剤として $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ を用いる場合に β 体が優先的に得られた。更なる立体選択性の向上を目指して、より嵩高い3-ペンチリデン基を持つ糖供与体を用いてリボシル化反応を行ったところ、 β 選択性 ($\beta/\alpha=16/1$) が大幅に向上した。立体選択性の発現機構を考察するために、密度汎関数法による構造最適化計算を行い、生成するオキソカルベニウムイオン中間体の最安定構造を算出した。その結果、オキソカルベニウムイオン中間体は E_3 配座をとっており、リボース環のひずみによって3-ペンチリデン基の末端 Me 基がリボース α 面の1位側に突出し、 α 面からの求核攻撃に対し効果的な立体障害を作り出している事が示唆された。

2. (+)-カプラゾールの全合成

開発した β 選択的リボシル化反応を用いて 5'- β -O-アミノリボシルグリシルウリジン鍵中間体を高立体選択的に合成した。ジアゼパノン部は、接触還元およびヒドリド還元を連続的に行う分子内環化法で目的物を得た。種々官能基を変換後、最後に全ての保護基の除去を行い、(+)-カプラゾールの初の全合成を達成した。

3. FR-900493 の全合成

FR-900493 は、広い抗菌スペクトルを有するヌクレオシド系抗生物質である。立体化学は不明であるが、構造中に CPZs と同様の 5'- β -O-アミノリボシルウリジン構造が含まれる。著者は、FR-900493 も CPZs と同様の立体化学 (5'S, 6'S) を有

していると推測し、全合成的手法による立体構造の解明に着手した。カプラゾール合成中間体から数行程で合成した化合物の機器データは、標品のものと完全に一致したことから、これまで未知であった立体化学を明らかにすることが出来た。

4. パルミトイルカプラゾールおよび CPZs 部分構造欠如誘導体の合成

CPZs は、細菌細胞壁合成酵素 MraY を阻害して抗菌活性を示す。生命維持に必要な本酵素は全ての細菌に共通して存在するので、これを標的とすることで優れた抗菌活性が期待できる。CPZs の活性発現には細菌細胞膜透過が必須であり、脂溶性側鎖は重要な鍵を握っている。そこで、カプラゾールに様々な脂溶性側鎖を導入することを視野に入れて、まずパルミトイルカプラゾールの合成を計画した。さらに、ファーマコフォア探索を行うために、ウリジン部欠如およびアミノリボース部欠如アナログも設計した。

ウリジンから 16 行程 (10.2%) でパルミトイルカプラゾールの合成に成功した。また、確立した合成経路を用いて部分構造欠如体の合成を完了した。

5. ジアゼパノン構造改変誘導体の設計と合成

CPZs のジアゼパノン部は、脂溶性側鎖とリボシルウリジン部間の *scaffold* である。著者は、創薬を視野に入れた誘導体合成を目指して、ジアゼパノン骨格をさらに単純な *scaffold* への変換を計画した。系統的かつ効率的な合成を行なうために、アミノ酸を組み込んだ非環状誘導体を設計した。セリンを用い、その第一級水酸基を足がかりとして脂溶性残基を導入し、ジアゼパノン切断アナログを平行合成した。さらに、非環状誘導体を分子内脱水縮合させて 2,5-ジケトピペラジン置換体を合成した。

6. 抗菌活性評価と CPZs 構造活性相関の検討

合成した誘導体について、抗菌活性を調べた。その結果、パルミトイルカプラゾールは薬剤耐性株 (MRSA, VRE) を含むグラム陽性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを示した。その他の一般病原菌に対しても、CPZ-D とほぼ同等の抗菌活性を示した。また、ジケトピペラジン体よりも環切断誘導体の方がより強い抗菌活性を示した。

論文発表に続いて発表内容を中心として関連のある専門分野を含めた口頭試問を実施した。その内容は、本研究の背景、目的および関連分野等における知識、また合成手法や創薬化学的知識など多岐に亘った。これらに対する回答は、適切かつ高度なものであり、博士の学位を与えるに相応しいと判断した。提出された学位論文の内容はよくまとまっており、その研究成果は独創的かつ有用性に富み、本専門研究分野の中で高く評価されるに値する内容であると判断した。

以上の結果、本論文審査委員会は、平野慎平氏を博士 (薬学) の学位を授与するに相応しい十分な学力と研究能力を有するものと認めた。