

6-Tuliposide B の全合成並びに構造活性相関研究

学位論文内容の要旨

近年、チューリップの薬に特異的に存在する化合物、6-tuliposide B (6-O-[(3'S)-3',4'-dihydroxy-2'-methylenebutanoyl]-D-glucose)が数種の薬剤耐性菌を含む、グラム陽性菌やグラム陰性菌に対して広い抗菌スペクトルを持つことが近年明らかにされた。本研究では本化合物の抗菌活性作用機序の解明及び抗菌剤としての展開を目指し、その全合成とアナログ合成、及びそれらを用いた構造活性相関研究を行った。

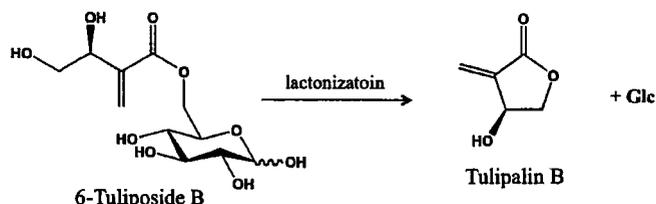


図 1 6-Tuliposide B および(-)-tulipalin B.

6-Tuliposide B の全合成には Baylis-Hillman 反応を鍵反応として用いた。4'位水酸基の保護基として TBDMS 基、アノマー水酸基の保護基として 2-trimethylsilylethyl 基を用いた。これにより低収率の原因となる側鎖のラクトン化を抑制した、効率的な 6-tuliposide B の合成に初めて成功した(図 2)。さらにその全合成過程において、6-tuliposide B の 3'エピマーとそれぞれの β -メチル配糖体を得た。

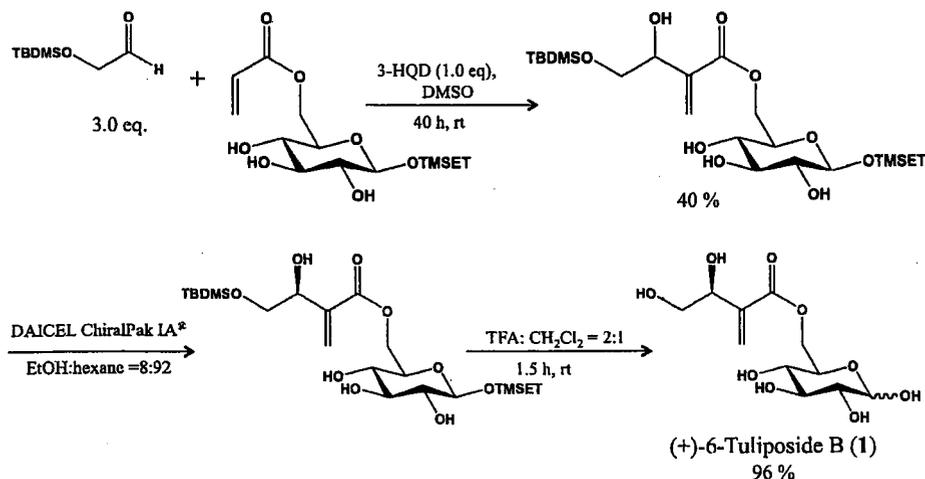


図 2 6-Tuliposide B の全合成.

また、確立した合成ルートを鋳型として、4'-deoxy型アナログ、hexanoyl型アナログを合成した。さらに Katsuki-Sharpless の速度論的分割を利用することで、amide型 6-tuliposide B、側鎖のメチルエステル、1,2-dideoxy型アナログおよび 6-tuliposide B の α -methyl 配糖体の合成も達成した。

市販の tulipalin A 及び、それぞれの非天然型アナログを含めた計 25 種の化合物について 8 種の菌株に対する抗菌活性を評価し、構造活性相関について検討した。Amide 型のアナログを含め、tulipalin B を形成しないアナログは全て活性を示さなかった。このことから、活性本体は tulipalin B であり、また、6-tuliposide B 自身は不活性な構造であると考えられた。活性のあったアナログについては薬剤耐性菌である MRSA に対しても 0.2-0.5 mM の範囲で完全生育阻害活性を示した。Tulipalin A は tulipalin B に比べて 1/10 程度の活性しか示さなかった。このことから tulipalin B の 3 位水酸基が本化合物の持つ特異的な活性に寄与していると考えられた。また、tulipalin B については 3 位の立体配置によって大きな差は見られなかった (図 3)。

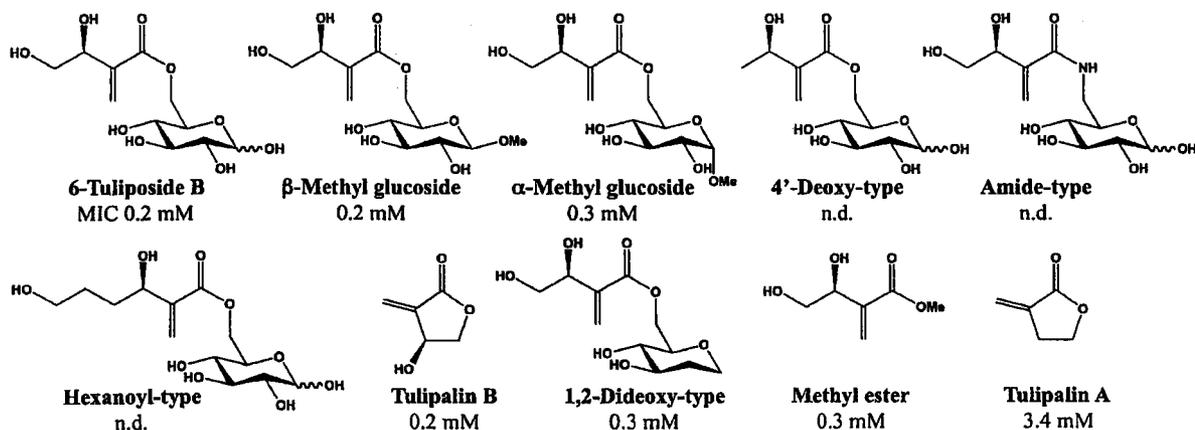


図 3 合成した代表的なアナログとそれぞれの大腸菌(*E. coli*)に対する MIC 値。

それぞれの活性化合物についてヒト白血病細胞 K562 を用いた細胞毒性試験に供した。B 系列の化合物は、いずれも抗菌活性における MIC を下回る 100 μ M で 80%の細胞毒性を示した。一方、tulipalin A は同じ 100 μ M においても 20%と軽微な毒性を示すのみであり、細胞毒性試験においても、3 位水酸基が活性に大きく寄与していることが確認された。一方、tuliposide B と同じ β,γ -dihydroxy- α -methylenebutanoate 構造を持つ天然物 cnicin が、細菌の細胞壁合成酵素 MurA を特異的に阻害するという報告もなされており、このことから 6-tuliposide B・tulipalin B にも同様のバクテリア特異的な阻害機序が存在することが示唆される。今後、ヒト細胞に対する毒性を抑制し、MurA 阻害に特化したアナログを合成することで、新たな作用機序を持つ抗生剤の開発が期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 生 方 信
副 査 教 授 橋 床 泰 之
副 査 教 授 鍋 田 憲 助
副 査 教 授 川 端 潤

学 位 論 文 題 名

6-Tuliposide B の全合成並びに構造活性相関研究

本論文は、邦文 97 頁、図 23、表 6、7 章からなり、参考論文 2 編が付されている。

6-Tuliposide B は、ユリ科植物に広く分布する二次代謝産物である tuliposide 類の一つである。近年、6-tuliposide B の持つ薬剤耐性菌を含めた広い抗菌スペクトルが報告された。本研究では、その報告を基に、6-tuliposide B の抗菌剤としての展開と抗菌剤作用機序の解明を目的として、6-tuliposide B の全合成と、類縁体合成、並びにそれらを用いた構造活性相関研究を行っている。多くの薬剤耐性菌の発生は臨床の現場などにおいて非常に深刻な問題となっており、新たな作用機序を持つ抗菌剤の開発が必要とされている。本研究は、天然から取得される新たな抗菌剤開発への足掛かりとなる点において非常に有益である。

6-Tuliposide B の全合成は β -ヒドロキシ- α -メチレンエステル構造を単段階で構築可能な Baylis-Hillman 反応を主軸に展開されている。Tuliposide 類は 60 年以上前から知られている天然物であるが、その全合成については試みが二例報告されているのみであり、達成された例は無い。この理由として著者は tuliposide B 側鎖の不安定さに着目し、保護基の選択について酵素法や化学法などについて詳細に検討している。結果として、酸性条件で脱保護可能なシリル系の保護基並びに 2-トリメチルシリル基を用いることで最終段階におけるラクトン化を抑制しながら、効率的な脱保護条件を見出し、初の全合成を達成している。

次に、全合成経路を鋳型として 6-tuliposide B の C-6 型類縁体、4'-deoxy 型類縁体を合成し、加えて 6-tuliposide B 並びに合成した tulipalin B 両者を水素添加することでそれぞれの還元型類縁体についても合成している。さらに、香月-シャープレスの速度論的分割法を利用することで、6-Tuliposide B のエステル結合をアミド結合へと変換した類縁体についても合成している。さらに、6-tuliposide B の α -メチルグルコシドや 1,2-デオキシ型の類縁体についても同様に合成し、その他にも 6-tuliposide B の β -メチルグルコシド、tuliposide B 側鎖のメチルエステルなど、多くの類縁体を合成している。

合成した 24 種の化合物と、市販の tulipalin A を合わせた合計 25 種の化合物について薬剤耐性菌 3 種を含む 8 種の菌株を用いて抗菌活性測定を行い、構造活性相関について検討している。前述の様に tuliposide 類は古くから知られている化合物であるが、このように多くの類縁体を用いて網羅的に研究を行った例はこれまでに無く、評価に値する。抗菌活性測定の結果、6-tuliposide B の抗菌活性本体がラクトンである tulipalin B であることを見出すとともに、それらが院内感染において問題となっている MRSA についても生育阻害活性を持つことを明らかにしている。また、構造活性相関の結果から 6-tuliposide B 自身が抗菌活性においては不活性な

形体であることが示唆されており、その植物生理学的な役割についても有意義な情報を見出している。

その活性作用機序については、tulipalin B が活性本体であるという結果と Steinbach らの報告から、バクテリアの細胞壁合成酵素の一つである MurA に対する 1,3 付加型の阻害であると考察している。MurA の阻害剤としては現在 fosfomycin が実際に使用されているが、tuliposide B 並びに tulipalin B の抗菌活性は（ターゲットこそ同じであるが）これとは異なる作用機序であるため、新たな範疇の抗菌剤として展開される可能性が見出された。

この様に著者は天然物 6-tuliposide B の初の合成を達成するとともに、その抗菌活性本体と作用機序について明らかにした。さらに現在、共同研究として本論文で合成した化合物をプローブに用いて、tuliposide 類の植物生理学的機能の解明が行われており、本研究の高い発展性についても評価に値する。

これらの研究結果のうち、原著論文二報が学術雑誌である *Heterocycles*、*Tetrahedron: Asymmetry* に受理された（それぞれ 2006 年 69 巻 63-67 頁、2008 年 19 巻 1444-1449 頁）。

よって、審査員一同は、重富顕吾が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。