

## 学位論文題名

新規抗緑膿菌薬の創製を指向したパシダマイシン類の合成と  
構造活性相関に関する研究

## 学位論文内容の要旨

緑膿菌の毒力は弱く、健常者にはほとんど感染しないが、新生児や、免疫力の低下した患者が易感染宿主となり、重篤な症状を呈する場合がある。薬剤耐性も深刻な問題であり、緑膿菌感染症の治療に有効な3系統の薬剤、すなわち、広域β-ラクタム系、アミノ配糖体系、ニューキノロン系に対して、同時に耐性を示す多剤耐性緑膿菌 (multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: MDRP) は、最も問題とされている病原菌の一つである。MDRP 感染発症時の致死率は約 40%に上ると言われているものの、効果的な治療薬が無いため、MDRP に有効な治療薬の創製が望まれている。

ウリジルペプチド系抗生物質 (uridyl peptide antibiotics, UPAs) は、緑膿菌に対して選択的に抗菌作用を示すことが知られているヌクレオシド系天然物であり、ムレイドマイシン類、ナブサマイシン類、パシダマイシン類と、最近発見されたサンサンマイシン類が知られている。抗菌活性発現機構は細菌の細胞壁であるペプチドグリカンの合成を阻害することによるが、その作用機序はβ-ラクタム系抗生物質やバンコマイシンとは異なる。ペプチドグリカンは、脂質糖ペプチドであるリピド II の重合により形成される。UPAs はリピド II の合成を担う転移酵素 *MraY* を強力に阻害する。*MraY* は、多くの細菌間で高度に保存されており、その欠損は細菌の生存に致死的事であることから、*MraY* 阻害剤の開発は薬剤耐性菌に有効な抗菌剤の開発につながると考えられる。このように既存の抗菌薬とは作用機序を異にする UPAs は、緑膿菌に対する新たな抗菌薬の有望な候補化合物と考えられる。故に、これまでいくつかのグループにより UPAs の合成研究が行われてきたが、その全合成は未だ達成されておらず、系統的な構造活性相関研究に至っていない。そこで著者は、UPAs の初期の構造活性相関研究に有用な合成ルートの確立を本研究目的とした。

UPAs は、4', 5'位に Z-オキシアシルエナミド構造を有する 3'-デオキシウリジンとテトラペプチドから構成される。UPAs に見られる Z-オキシアシルエナミド構造は、そのβ位に酸素原子を有することが特徴で、本構造を有する化合物は UPAs 以外に無い。また、その活性発現への寄与も示唆されており、Bugららは、本構造が *MraY* と共有結合し、安定な複合体を形成することで活性を発現すると考察している。

一方で、一般的なエナミド構造の構築は精力的に研究されており、有用な方法が見出されている。中でもハロゲン化ビニルとカルボキサミドのクロスカップリングは、一般的に温和な反応条件下で立体特異的に進行するため、種々のポリケチド型天然物の全合成に利用されている。そこで著者は、クロスカップリングに着目し、まずパシダマイシン D の全合成を目指すこととした。本全合成では、ウリジン部 Z-オキシハロゲン化ビニルとテトラペプチドカルボキサミドのクロスカップリングが必要となるが、α位の異性化、複数のヘテロ原子存在下での触媒の失活、官能基選択性を克服することが課題となる。

基質となるウリジン部 Z-オキシハロゲン化ビニルの合成については、まず Tanaka らの方法を参考にした。すなわちウリジン部 4', 5'位のエキソオレフィン体を原料とし、5'位のフェニルチオ化、スズへの変換、ヨウ素化を経て Z-オキシヨウ化ビニルの合成を検討した。その結果、リボ体については所望の Z-オキシヨウ化ビニルを得ることができたが、天然型である 3'-デオキシ体についてはフェニルチオ化と続くのスズへの変換が低収率 (2工程 3%) であり、本方法による合成は困難であると判断した。そこで、その代替法として、エキソオレフィン体 5'位の直接的ヨウ素化を検討したところ、iodonium dicollidinium

triflate (IDCT) が有効であることを見出し、3'-デオキシ-Z-オキシヨウ化ビニルを得ることができた。さらに、本試薬はリボ体にも適用可能であり、エキソオレフィン体から直接 Z-オキシヨウ化ビニルを立体選択的に得ることが出来た。

次いで、Z-オキシヨウ化ビニルとテトラペプチドカルボキサミドとの Cu(I)触媒を用いたクロスカップリングを検討した。まず、Buchwald らが報告している *N,N'*-ジメチルエチレンジアミンを配位子として用いる条件下で反応を行ったところ、テトラペプチドカルボキサミドが、カルボキサミドの窒素原子と C 末端の *t*-Bu エステルで反応し自己環化した環状イミドが副生し、目的のカップリング体を得ることは出来なかった。この原因は、テトラペプチドカルボキサミドと Cu(I)触媒により生じたアミダート中間体において、Cu(I)により活性化されたカルボキサミドの窒素原子が、分子内の求電子部位である C 末端の *t*-Bu エステルカルボニル炭素原子を攻撃したことによると考察した。そこで、これを抑制すべく *t*-Bu エステルとの立体反発の増大を狙い嵩高い配位子として 1,2-ジフェニル-*N,N'*-ジメチルエチレンジアミンを用いたところ、所望のカップリング体を得ることが出来た。本反応は高い官能基選択性を示し、ウレア、カルバメート、第 2 級アミド、インドール NH など多くの反応性官能基の存在下で、第 1 級カルボキサミドが選択的に反応する結果となった。最後に脱保護を行い、パシダマイシン D 及びその 3'-ヒドロキシ体の初の全合成を達成した。

次に、これらの生物活性を測定した結果、MraY 阻害活性、抗菌活性ともにほぼ同等の値を示した。このことから、ウリジン 3'位への水酸基の導入は、生物活性に対して許容されることが明らかとなった。

そこで著者は、天然物であるパシダマイシン D と同等の活性を有し、且つ合成が比較的簡便な 3'-ヒドロキシパシダマイシン D をリードとして構造活性相関研究を進めることとした。

初期の構造活性相関研究においては、幅広い構造変換を迅速に展開すべく、多検体合成にも適応可能な収束的合成法が望まれる。そこで著者は、Ugi 4 成分反応 (U-4CR) を鍵とする第 2 世代合成法の検討を行った。その鍵中間体であるウリジン部の  $\alpha,\beta$ -不飽和イソニトリルは、Z-オキシヨウ化ビニルに対し、これまで見出しているクロスカップリング条件下でホルムアミドを導入した後、これを脱水することで収率良く調製した。続く各パートとの U-4CR も円滑に進行し、初期の構造活性相関研究に極めて有用な第 2 世代合成法の確立に成功した。

最後に、本ルートを適用し、3'-ヒドロキシパシダマイシン D の初期 SAR を行った。その結果、UPAs に特徴的なテトラペプチド部のアミノ酸残基である DABA 部分の立体配置が MraY 阻害活性、抗菌活性に重要であることを明らかにした。また、UPAs の中でも最も活性の高いムレイドマイシン C の側鎖である Gly-*L-m*-Tyr を N 末端に導入した誘導体を合成し、その *L-m*-Tyr を *L*-Tyr に置換すると活性が大幅に低下することから、*L-m*-Tyr 残基の水酸基の位置が活性発現に重要であることを明らかとした。

以上著者は、UPAs の構造活性相関研究を視野に入れ、その特徴的構造である Z-オキシアシルエナミドを、Cu(I)触媒を用いるクロスカップリングにより、緩和な条件下、効率的に構築できる方法を見出し、これを鍵として、パシダマイシン D および 3'-ヒドロキシパシダマイシン D の初の全合成を達成した。さらに、その MraY 阻害活性と抗菌活性の比較を行い、パシダマイシン D の 3'位への水酸基の導入が MraY 阻害活性および抗菌活性に対して許容されることを明らかとした。次いで、3'-ヒドロキシパシダマイシン D をリードとして効率的な初期評価を行うべく、U-4CR を鍵とし、より収束的な第 2 世代合成法を構築した。これにより、初期構造活性相関研究の迅速な実施が可能となった。今後、これらの知見を基に、更なる構造活性相関研究の進展が期待できる。

# 学位論文審査の要旨

主査	准教授	市川	聡
副査	教授	松田	彰
副査	教授	佐藤	美洋
副査	准教授	齋藤	望

## 学位論文題名

### 新規抗緑膿菌薬の創製を指向したパシダマイシン類の合成と構造活性相関に関する研究

博士学位論文審査等の結果について（報告）

新生児や免疫力の低下した患者を易感染宿主とする緑膿菌は、時に重篤な症状を呈する場合がある。薬剤耐性も深刻な問題であり、緑膿菌感染症の治療に有効な3系統の薬剤に対して、同時に耐性を示す多剤耐性緑膿菌 (MDRP) は、最も問題とされている病原菌の一つである。MDRP 感染発症時の致死率は約 40%に上ると言われているものの、効果的な治療薬が無い。MDRP を含む緑膿菌に広く有効な治療薬の創製が望まれている。

本論文は、このような現況にある抗緑膿菌薬開発を踏まえ、抗菌抗生物質パシダマイシン類に着目した天然物合成とその構造活性相関研究について述べたものである。既存の抗菌薬とは作用機序を異にするパシダマイシン類は、緑膿菌に対する新たな抗菌薬として有望な候補化合物であり、これまでいくつかのグループにより合成研究が行われてきた。しかしその全合成は未だ達成されておらず、系統的な構造活性相関研究に至っていない。そこで著者は、まずパシダマイシン類の構造活性相関研究に有用な全合成経路を確立することとした。

パシダマイシン D の全合成の鍵となる Z オキシアシルエナミド構造の構築は、ハロゲン化ビニルとカルボキサミドのクロスカップリングを適用することとした。基質となるウリジン部 Z オキシハロゲン化ビニルの合成は、ウリジン部 4', 5'位のエキソオレフィン体を原料として、5'位のフェニルチオ化、スズへの変換、ヨウ素化を経て Z オキシヨウ化ビニルの合成を検討した。その結果、リボ体については所望の Z オキシヨウ化ビニルを得ることができたが、天然型である 3'-デオキシ体についてはフェニルチオ化と続くのスズへの変換が低収率であった。そこで、エキソオレフィン体 5'位の直接的ヨウ素化を検討したところ、iodonium dicollidinium triflate (IDCT) が有効であることを見出し、3'-デオキシ-Z オキシヨウ化ビニルを得ることができた。さらに、本試薬はリボ体にも適用可能であり、エキソオレフィン体から直接 Z オキシヨウ化ビニルを立体選択的に得ることが出来た。

次いで、Z オキシヨウ化ビニルとテトラペプチドカルボキサミドとの Cu(I)触媒を用いたクロスカップリングを検討した。まず、Buchwald らが報告している *N,N'*-ジメチルエチレンジアミンを配位子として用いる条件下で反応を行ったところ、テトラペプチドカルボキサミドが、カルボキサミドの窒素原子と C 末端の *t*Bu エステルで反応して自己環化した

環状イミドが副生し、目的のカップリング体を得ることは出来なかった。この原因は、テトラペプチドカルボキサミドと Cu(I)触媒により生じたアミダート中間体において、Cu(I)により活性化されたカルボキサミドの窒素原子が、分子内の求電子部位である C 末端の *t*-Bu エステルカルボニル炭素原子を攻撃したことによると考察した。そこで、これを抑制すべく *t*-Bu エステルとの立体反発の増大を狙い、嵩高い配位子として 1,2-ジフェニル-*N,N'*-ジメチルエチレンジアミンを用いたところ、所望のカップリング体を得ることが出来た。本反応は高い官能基選択性を示し、ウレア、カルバメート、第 2 級アミド、インドール NH など多くの反応性官能基の存在下で、第 1 級カルボキサミドが選択的に反応する結果となった。最後に脱保護を行い、パシダマイシン D 及びその 3'-ヒドロキシ体の初の全合成を達成した。合成した化合物の生物活性を測定した結果、MraY 阻害活性、抗菌活性ともにほぼ同等の値を示した。このことから、ウリジン 3'位への水酸基の導入は、生物活性に対して許容されることが明らかとなった。

幅広い構造変換を迅速に展開すべく、多検体合成にも適応可能な収束的合成法として、Ugi 4 成分反応 (U-4CR) を鍵とする第 2 世代合成法の確立も行った。本合成法を用いて、3'-ヒドロキシパシダマイシン D の初期 SAR を行った。その結果、UPAs に特徴的なテトラペプチド部のアミノ酸残基である DABA 部分の立体配置や *L-m*-Tyr 残基の水酸基の位置が MraY 阻害活性、抗菌活性に重要であることを明らかにした。

論文発表に続いて発表内容とその関連の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、岡本和也氏を北海道大学博士（生命科学）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る。