

学位論文題名

抗耐性肺炎球菌活性を有する新規マクロライド誘導体に関する創薬研究

学位論文内容の要旨

マクロライド系抗生物質は、肺炎の原因菌である肺炎球菌に対する抗菌力と安全性が世界的に処方されている。しかし近年、マクロライド系抗生物質に対して耐性を獲得した肺炎球菌の出現が医療上の問題となりつつある。このような背景の下、筆者は耐性肺炎球菌にも抗菌作用を示す新規マクロライド誘導体の創薬研究に取り組み、リボソームの空間情報を利用した分子設計を行うことで新規 2-フルオロケトライドおよび、新規母核構造である 11a-アザライド骨格の創出を行った。

1. 新規 6 位置換 2-フルオロケトライドの創出

テリスロマイシンと *H. marismortui* 由来のリボソーム 50S サブユニットとの共結晶の空間情報の解析結果をもとに、テリスロマイシンの側鎖結合部分である 2609 番目のウラシル残基 (U2609) とのスタッキングと 752 番目のアデニン塩基 (A752) との水素結合が両立するビアリアル構造を組み込んだ 2-フルオロケトライド誘導体を設計して合成を行った。合成した 2-フルオロケトライド誘導体は耐性肺炎球菌である *S.pneumoniae* 205 株に対して MIC が 0.008 $\mu\text{g/mL}$ と強力な *in vitro* 抗菌力を示すことが分かった。さらに耐性肺炎球菌によるマウス肺感染モデルにおいて、これらの誘導体は 12.5 mg/kg の投与量から肺内生菌数を用量依存的に減少させる良好な *in vivo* 抗菌力を有していることが分かった。

次に筆者はリボソーム U2609 周辺との相互作用を狙ったデザインを別の置換位置での検討に応用することを考え、さらなる研究を開始した。

2. 11a-アザライド骨格の合成法確立

リボソームの U2609 周辺との相互作用を狙い、エリスロマイシン骨格の 13 位への側鎖導入を計画したが、13 位には反応性官能基がないため置換基導入による構造変換は困難である。そこで筆者は 13 位への側鎖導入を実現する目的で「カット アンド ペースト」法を利用した新規母核 11a-アザライドの合成検討を行った。(9S)-9-ジヒドロエリスロマイシンの 9 位、2'位および 4'位水酸基を TES 基で保護した 11、12 位ジオール体を原料に用いたところ、四酢酸鉛を用いた酸化開裂は円滑に進行した。そして、続く 2-アミノエタノールを用いた還元的アミノ化反応、生じた 2 級アミンの *N*-メチル化

を連続して行うことでセコ酸前駆体が収率 77%で得られた。さらにエステル加水分解を行った後に、改良山口法によるマクロラクトン化を行い、最後にシリル基の脱保護を行うことで、ジオールから通算 6 工程、36%で最終物である 11a-アザライドの合成を達成した。得られた 11a-アザライドは感性肺炎球菌である *S.pneumoniae* ATCC49619 株に対して MIC が 4 $\mu\text{g/mL}$ と抗菌活性を示すことが分かった。

3. 11a-アザライド母核の最適化

次に、母核構造の最適化を検討した。エリスロマイシン A における構造活性相関情報から良好な抗菌活性が期待できる 6 位メトキシ体、9 位アミノ体、9 位ケトン体および 3 位ケトン体を選抜して合成を実施した。合成した母核変換体の *in vitro* 抗菌力を測定した結果、6 位メトキシ体および 9 位アミノ体では感性肺炎球菌である *S.pneumoniae* ATCC49619 株に対して MIC が 2 $\mu\text{g/mL}$ と抗菌活性を示したのに対して、9 位および 3 位ケトン体は抗菌活性が大きく減弱したことから、側鎖を導入する母核としては抗菌活性が良好で合成原料が供給しやすい 9 位水酸基体を用いることとした。

4. 耐性肺炎球菌に対する抗菌活性向上のための側鎖導入検討

U2609 周辺におけるリボソームとの相互作用を狙い 13 位への置換基導入を計画した。置換基導入にあたり 12 位、13 位に置換基を有する場合の 11a-アザライド合成を検討したところ、13 位に S 配置の置換基をもつセコ酸のマクロラクトン化では、6 位が水酸基の場合には 7 員環ラクTONの副生が競争し、6 位がメトキシ基の場合には 2 位のエピメリ化が進行することが分かった。条件検討の結果、2 位のエピメリ化はトルエンからアセトニトリルに溶媒を変更することで生成比を大きく改善できることを見出した。この改良合成法に基づく 13 位への置換基導入により、耐性肺炎球菌活性の向上を試みた結果、*S.pneumoniae* 205 株に対して MIC が 8 $\mu\text{g/mL}$ まで向上する誘導体を見出した。しかし、13 位置換体では耐性菌への抗菌力がそれほど向上できなかったことから、その理由を溶液中コンホメーションによって解析した。その結果、11a-アザライドではマクロラクTON環の平面性が失われ 13 位側鎖が U2609 方向に向いていない可能性が示唆された。一方、3 位クラジノシル基はエリスロマイシン型とコンホメーションが類似していることが分かった。エリスロマイシン型母核構造において 3 位クラジノシル基の 4" 位へ側鎖を導入すると、クリンダマイシンやクロラムフェニコールなどの他の抗菌薬の結合サイトに側鎖が伸長することでリボソームとの親和性が増強し、耐性肺炎球菌に対する抗菌力が向上するという報告があることから、11a-アザライドの 4" 位に同様の側鎖を組み込むこととした。合成した誘導体の *S.pneumoniae* 205 株に対する MIC は 0.25 $\mu\text{g/mL}$ まで改善しており、4" 位側鎖が期待通りリボソームと相互作用している可能性が示唆された。これらの誘導体は「カット アンド ペースト」法を機軸とする骨格変換で耐性肺炎球菌に対する抗菌活性を改善した初めての例であり、本法がマクロライド系抗生物質開発において有用な方法であることを実証した。

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	橋 本 俊 一
副 査	教 授	松 田 彰
副 査	准教授	市 川 聡
副 査	准教授	穴 田 仁 洋

学 位 論 文 題 名

抗耐性肺炎球菌活性を有する新規マクロライド誘導体に関する創薬研究

博士学位論文審査等の結果について（報告）

マクロライド系抗生物質は、肺炎の原因菌である肺炎球菌に対する抗菌力と安全性が世界的に処方されているが、近年、マクロライド系抗生物質に対して耐性を獲得した肺炎球菌の出現が医療上の問題となりつつある。今回著者は、耐性肺炎球菌に抗菌作用を示す新規マクロライド誘導体の研究に取り組み、リボソームの空間情報を利用した分子設計による新規 2-フルオロケトライドおよび新規母核構造である 11a-アザライド骨格の創出に関する検討を行った。

著者はまず、テリスロマイシンと *H. marismortui* 由来のリボソーム 50S サブユニットとの共結晶の空間情報の解析結果をもとに、テリスロマイシンの側鎖芳香環結合部分である 2609 番目のウラシル塩基 (U2609) とのスタッキングと 752 番目のアデニン塩基 (A752) との水素結合が両立するピアリール構造を組み込んだ 2-フルオロケトライド誘導体を設計して合成を行った。その結果、耐性肺炎球菌である *S. pneumoniae* 205 株に対して MIC が 0.008 $\mu\text{g/mL}$ と強力な *in vitro* 抗菌力を示し、さらに耐性肺炎球菌によるマウス肺感染モデルにおいて、12.5 mg/kg の投与量から肺内生菌数を用量依存的に減少させる良好な *in vivo* 抗菌力を有する誘導体を得た。次に筆者はリボソーム U2609 周辺との相互作用を狙ったデザインを別の置換位置での検討に応用することを目指し、「カット アンド パースト」法を利用した新規母核 11a-アザライドの合成検討を行った。(9S)-9-ジヒドロエリスロマイシンの 9 位、2'位および 4"位水酸基を TES 基で保護した 11、12 位ジオール体に対する四酢酸鉛を用いた酸化開裂は円滑に進行し、続く 2-アミノエタノールを用いた還元的アミノ化反応、生じた 2 級アミンの *N*-メチル化を連続して行うことでセコ酸前駆体が収率 77%で得られた。さらにエステル加水分解を行った後に、改良山口法によるマクロラクトン化を行い、最後にシリル基の脱保護を行うことで、ジオールから通算 6 工程、収率 36%で最終物である 11a-アザライドの合成を達成した。得られた 11a-アザライドは感性肺炎球菌である *S. pneumoniae* ATCC49619 株に対して MIC が 4 $\mu\text{g/mL}$ と抗菌活性を示すことが分かった。

次に著者は、母核構造の最適化を検討した。エリスロマイシン A における構造活性相関情報から良好な抗菌活性が期待できる 6 位メトキシ体、9 位アミノ体、9 位ケトン体および 3 位ケトン体を選抜して合成を行い、それら誘導体についての *in vitro* 抗菌力を測定した結果、6 位メトキシ体および 9 位アミノ体では感性肺炎球菌である *S. pneumoniae* ATCC49619 株に対して MIC が 2 $\mu\text{g/mL}$ と抗菌活性を示したのに対して、9 位および 3 位ケトン体は抗菌活性が大きく減弱したことから、側鎖を導入する母核としては 9 位水酸基体または 9 位アミノ体が適切であることを明らかにした。

さらに著者は、耐性肺炎球菌に対する抗菌活性向上を目的として 13 位への置換基導入検討を行った。置換基導入にあたり 12 位、13 位に置換基を有する場合の 11a-アザライド合成を検討したところ、13 位に S 配置の置換基をもつセコ酸のマクロラクトン化では、6 位が水酸基の場合には 7 員環ラクTONの副生が競争し、6 位がメトキシ基の場合には 2 位のエピメリ化が進行することが分かった。条件検討の結果、2 位のエピメリ化は溶媒をトルエンからアセトニトリルに替えることで生成比を大きく改善できることを見出した。本法によって合成した 13 位に種々の置換基をもつ誘導体について耐性肺炎球菌に対する抗菌活性を検討したところ、耐性肺炎球菌 *S. pneumoniae* 205 株に対する MIC が 8 $\mu\text{g/mL}$ を示す誘導体を見出した。次に 13 位置換体の溶液中コンホメーションを解析した結果、11a-アザライドではマクロラクTON環の平面性が失われ 13 位側鎖が U2609 方向に向いていない可能性があり、それが耐性菌に対する抗菌力改善が中程度にとどまっている原因だと推測した。一方、3 位クラジノシル基は 11a-アザライドとエリスロマイシンでコンホメーションが類似していることから、エリスロマイシン型母核構造で有効な側鎖を 3 位クラジノシル基に導入することで、耐性肺炎球菌に対する抗菌力が向上すると推測して、11a-アザライドの 4'位に同様の側鎖を組み込んだ結果、*S. pneumoniae* 205 株に対する MIC が 0.25 $\mu\text{g/mL}$ まで改善した誘導体を得た。これらの誘導体は「カット アンド ペースト」法を機軸とする骨格変換で耐性肺炎球菌に対する抗菌活性を改善した初めての例であり、本法がマクロライド系抗生物質開発において有用な方法であることを実証した。

以上、著者はリボソームの空間情報を利用した分子設計による新規 2-フルオロケトライドおよび新規母核構造である 11a-アザライド骨格の創出に関する検討を行った。本研究で得られた知見は、耐性肺炎球菌に対して有効な新規マクロライド系抗生物質の創薬につながる有意義な結果であるといえる。

従って、審査委員会は杉本智洋氏の論文が博士（生命科学）の学位を受けるのに十分に値するものと認めた。