HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	新規抗菌剤開発を指向したMraY阻害天然物ムライマイシン類の合成研究
Author(s)	谷野, 哲也; 市川, 聡; 魚谷, 幸一 他
Citation	YAKUGAKU ZASSHI, 131(3), 335-346
Issue Date	2011-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/47000
Type	journal article
File Information	Yaku131(3)b.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

—Review—

新規抗菌剤開発を指向したMraY阻害天然物ムライマイシン類の合成研究

谷野哲也,*,[a] 市川 聡,[a,b] 魚谷幸一,[c] 大山 洋,[d] 松田 彰[a,b]

Comprehensive Synthetic Study of Muraymycins toward the Development of Novel Antibacterial Agents

Tetsuya TANINO,*,[a] Satoshi ICHIKAWA,[a,b] Koichi UOTANI,[c] Hiroshi OYAMA,[d] and Akira MATSUDA[a,b]

[a]*Graduate School of Life Science,* [b]*Faculty of Pharmaceutical Science, Hokkaido University, Kita-12, Nishi-6, Kita-ku, Sapporo 060-0812, Japan,* [c]*Discovery Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd., 12-4 Sagisu 5-chome, Fukushima-ku, Osaka 553-0002, Japan, and* [d]*Shionogi Innovation Center for Drug Discovery, Shionogi & Co., Ltd., Kita-21, Nishi-11, Kita-ku, Sapporo 001-0021, Japan*

(Received August 5, 2010)

This review describes the synthesis and structure-activity relationship (SAR) study of muraymycins (MRYs), which are potent antibacterial nucleoside antibiotics. The key elements of our synthetic approach include the preparation of L-*epi*-capreomycidine *via* a C-H amination reaction and a convergent assemblage to construct of the framework of MRYs using Ugi four component reaction. With this approach the first total synthesis of MRY D2 and its epimer, *epi*-MRY D2, which does not have lipophilic substituents, has been accomplished. The fact that MRY D2 and it's epimer did not show any antibacterial activity indicated the lipophilic substituents of MRYs plays an important role in membrane-permeability. Hence, MRY analogues with lipophilic substituents were designed and synthesized simply by altering the aldehyde component in Ugi four-component assemblage. The MRY analogues with lipophilic substituents exhibited improved antibacterial activity against anti drug-resistant bacteria. It was also suggested that the accessory urea-dipeptide motif might contribute to MraY inhibitory and antibacterial activity. Our synthetic approach would effectively provide a variety of MRY analogues and resultant SAR information brings us directions to create further MRY analogues.

Key words——muraymycin; MraY; Ugi four-component reaction; C-H amination reaction; antibacterial; drug-resistanse

1. はじめに

1935年のDomagkらのスルホンアミドの発見や1940年のFlemingらによるペニシリンの発見を皮切りに，今日まで多くの抗菌剤が開発され，“奇跡の薬（Miracle Drugs）”として多くの人々を感染症の脅威から救ってきた.[1,2] その陰で，ペニシリンの発見からわずか2年後の1942年には，既にペニシリンに耐性を獲得した薬剤耐性黄色ブドウ球菌（penicillin-resistant *Staphylococcus aureus*）の存在が確認され，1960年代までには80%以上の黄色ブドウ球菌がペニシリンに対して耐性を獲得していたと考えられている．1961年にペニシリンの耐性機構であるβ-ラクタマーゼで分解されない抗菌剤であるメチシリンが開発されたが，1974年にはメチシリンやその他多くの抗菌剤に対して多剤耐性を獲得した黄色ブドウ球菌であるMRSA（methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*）が出現し，瞬く間に薬剤耐性を有する黄色ブドウ球菌が広まった．MRSAの治療薬として広く用いられているバンコマイシンにも，VRE（vancomycin-resistant *Enterococci*）やVRSA（vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*）などの耐性菌が出現している．さらに，抗菌剤の最終兵器と言われたリネゾリドでさえも2000年の承認からわずか1年で耐性菌が確認されている.[3] このように薬剤耐性菌と人類の戦いは常に“いたちごっこ”であり，われわれは絶えず新

[a]北海道大学大学院生命科学院，[b]同院薬学研究院（〒060-0812 札幌市北区北12条西6丁目），[c]塩野義製薬株式会社中央研究所（〒553-0002 大阪市福島区鷺洲5丁目12-4），[d]塩野義製薬株式会社シオノギ創薬イノベーションセンター（〒001-0021 札幌市北区北21条西11丁目）
*e-mail: tetuya@mail.sci.hokudai.ac.jp

本総説は，日本薬学会第130年会シンポジウムGS04で発表したものを中心に記述したものである．

しい作用機序を有する抗菌剤を開発する必要がある.

2. 新たなターゲット

抗菌剤を開発する上で，抗菌剤が細菌に対する選択毒性を有することは必須である．細菌は真核生物とは異なり細胞膜外に細胞壁を有しており，これによって外界からの異物の混入や浸透圧による溶菌から自身を守っている．したがって細菌固有である細胞壁の生合成を阻害する薬物の開発は，安全な抗菌剤の開発につながるために，これまで生合成に関与する酵素を標的として様々な抗菌剤が開発されてきた.[4,5] 細菌細胞壁であるペプチドグリカンは Fig. 1 に示すように生合成される．まず細胞内で合成された糖ペプチドであるウリジンジホスフェート-*N*-アセチルムラミルペンタペプチド（UDP MurNAc-pentapeptide）が膜内在タンパク質である転位酵素 MraY（translocase I）によってウンデカプレニルリン酸（C_{55}-P）へ転位され膜脂質である lipid I が合成される．続いて lipid I は *N*-アセチルグルコサミンの付加を受けたのちに細胞膜外へ転移され，トランスグリコシラーゼによって糖部が，またトランスペプチダーゼによってペプチド部が複雑に架橋されることで網目状構造を有するペプチドグリカンの生合成が完了する.[6-9]

臨床で広く用いられている β-ラクタム系抗生物質やバンコマイシンなどはペプチド架橋過程を阻害することで抗菌活性を示す．しかし MRSA や VRE などの薬剤耐性菌は，β-ラクタム薬が結合し難い細胞壁合成酵素（penicillin binding Protein-2′＝PBP-2′）の産生あるいはバンコマイシンの作用点であるペプチドグリカン前駆体（ムレインモノマー）の D-Ala-D-Ala 部を D-Ala-D-Lac へと変異させてバンコマイシンの結合を防ぐなど様々な機構によって既存の抗菌剤に耐性を獲得している．

そこで，抗菌剤開発の新たな標的として生合成上流の酵素 MraY が注目されている．MraY は，多くの細菌間で高度に保存されている 10 回膜貫通型の膜内在性タンパク質であり，その欠損は細菌の生存に致死的であることが知られている.[10] 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とから，われわれは MraY 阻害剤の開発を通じた新規抗菌剤の創製に着手した．

3. ムライマイシン類

筆者らは MraY 阻害活性を有する天然物であるムライマイシン類（MRYs, Fig. 2）に注目した．MRYs は，2002 年に米国 Wyeth 社（現 Pfizer 社）によって放線菌（*Streptomyces* sp.）から単離され

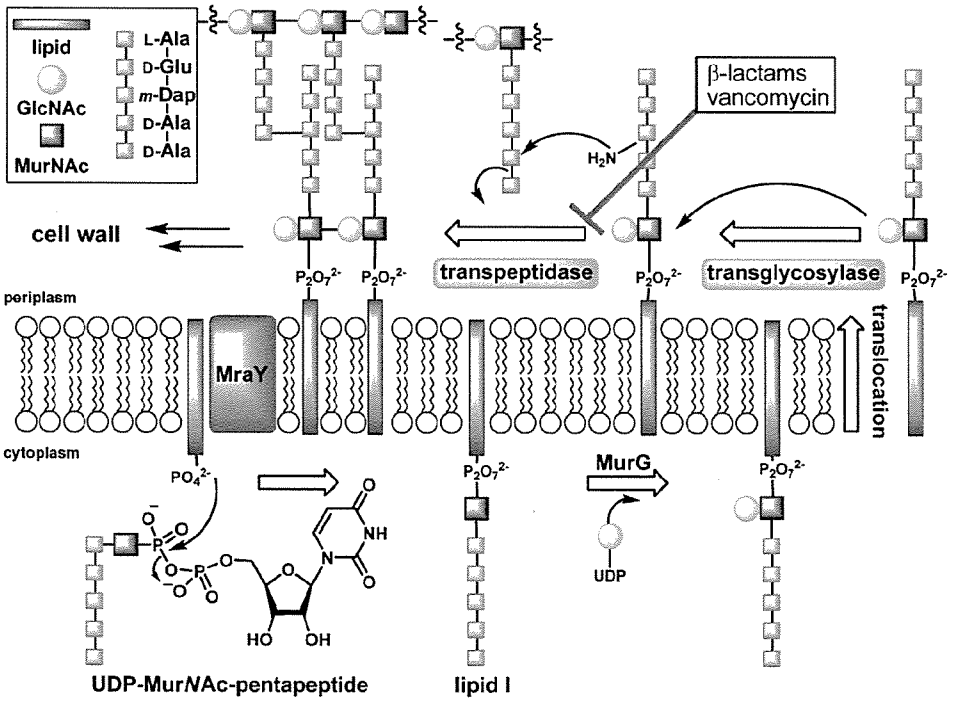
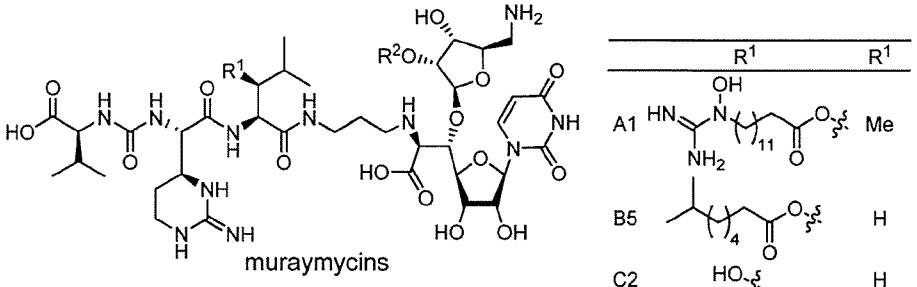


Fig. 1. Biosynthesis of Peptidoglycan



IC_{50} for MraY = 0.027 μg/mL
MIC for *S. aureus* = 4.0 μg/mL
ED_{50} for *S. aureus* infected mice = 0.83 mg/kg

Fig. 2. Structure of Muraymycins

た抗菌抗生物質であり,[11,12] *in vitro* の活性試験で MraY を強力に阻害し（IC_{50} for MraY＝0.027 μg/ml），黄色ブドウ球菌を含むグラム陽性菌に対して優れた抗菌活性を示す（MIC for *Staphylococcus aureus*＝4.0 μg/ml）．また，黄色ブドウ球菌感染マウスを用いた *in vivo* 活性試験でも顕著な治療効果を示し，新規抗菌剤開発の格好のリード化合物であると言える．

MRYs をリード化合物として新規抗菌剤の開発を行うためには，詳細な構造活性相関研究に基づくファーマコフォアや活性コンフォマーの同定など誘導体の設計指針が必要になるとともに，優れた抗菌活性及び MraY 阻害活性を有する質のよい誘導体ライブラリーの構築が必要である．これらを達成するためには，化合物の大量かつ迅速な供給が必要である．しかし MRYs の全合成はいまだ達成されていないことから,[13,14] まず誘導体合成が容易に行える合成法により MRYs の全合成及び誘導体の合成経路の確立を行い，それを用いた構造活性相関研究を通した新規抗菌剤の開発研究に着手した．

4. 逆合成解析

効率的に誘導体合成が行える合成法を確立する上で，筆者らは多成分反応を合成過程に用いることを計画した．多成分反応を用いる場合，一工程で複雑な骨格を構築できるのみならず，用いる成分を交換することで容易に多様な誘導体展開が期待できる．そのような方法の 1 つとして，Ugi-4 成分反応（U-4CR）[15] を選択し，MRYs の Fig. 3 点線部のペプチド骨格を合成終盤で一挙に構築することにした．

U-4CR に用いるイソニトリルユニット **4** は，カプラゾールの合成中間体であるアミノリボシド体 **1**[16–18] から誘導できると考えた．また U-4CR では一般にアンモニアを用いた場合収率が低下することが知られているため，アンモニア等価体として U-4CR 後に酸処理によって保護基を除去することができる 2,4-ジメトキシベンジルアミンを選択した．さらに，MRYs の特徴の 1 つである環状グアニジノ基を有する非天然アミノ酸の L-エピカプレオマイシジン（*epi*-Cpm）は，サルファマートを基質とする C-H アミノ化反応を鍵として合成することにした．[19–22]

5. MRY D2 及びそのエピマー体の全合成

アミノリボシド体 **1** に対して 3-アミノプロパナール誘導体を用いる還元的アルキル化反応を行い化合物 **2** を得た．続いて 2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル基を除去後，生じたアミノ基を選択的にホルミル化し **3** へと誘導した．最後に **3** に対してトリホスゲンを作用させイソニトリルユニット **4** を合成した（Scheme 1）．

近年，Du Bois らは化合物 **5** のようなサルファマート体に対して C-H アミノ化反応を行った場合，高い立体，位置選択性で 4*S* 体が得られることを報告している（Scheme 2）．[23] 筆者は同様にして化合物 **6** のようなサルファマート体に対して C-H アミノ化反応を行うことで目的の 4*S* 体が選択的に合成できると考えた．

C-H アミノ化反応に用いるサルファマート体 **8** は，市販の L-オルニチン誘導体をメチルエステルへ変換後，リチウムボロヒドリドで還元し，生じた水酸基をスルファモイル化することで 3 工程，結晶化収率 66% で合成した（Scheme 3）．そこで次に，サルファマート **8** に対して C-H アミノ化反応を検

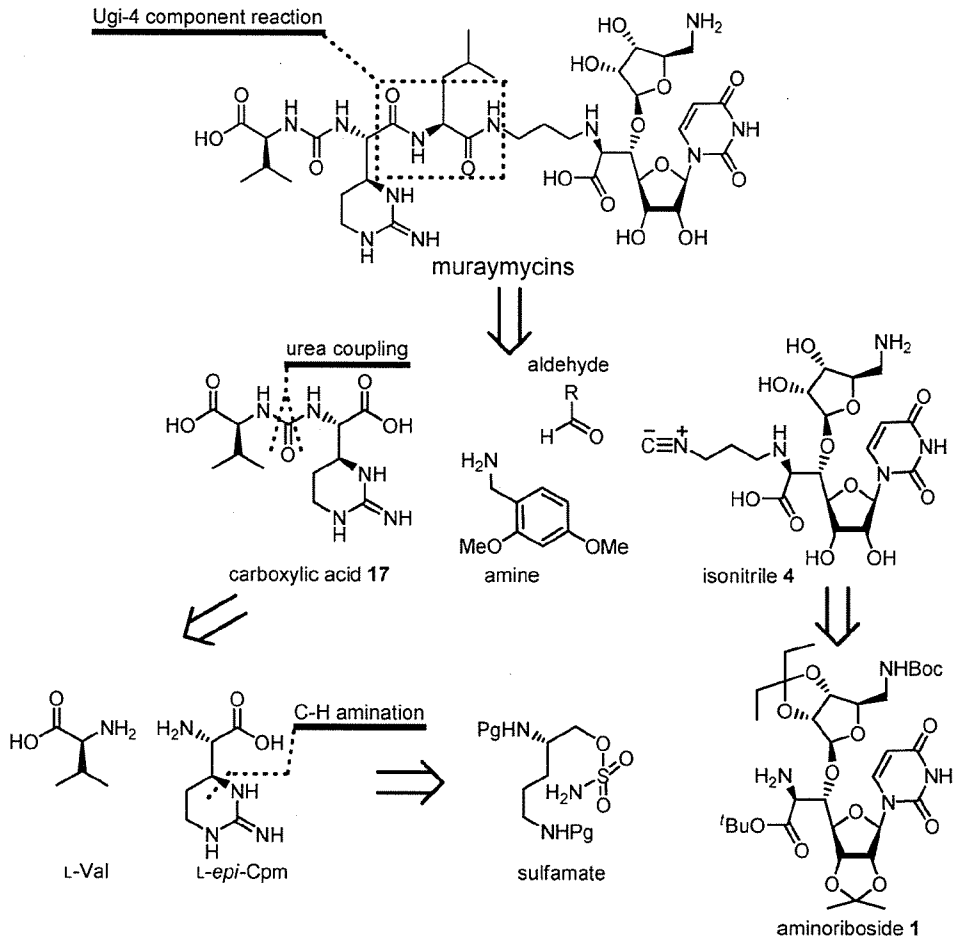
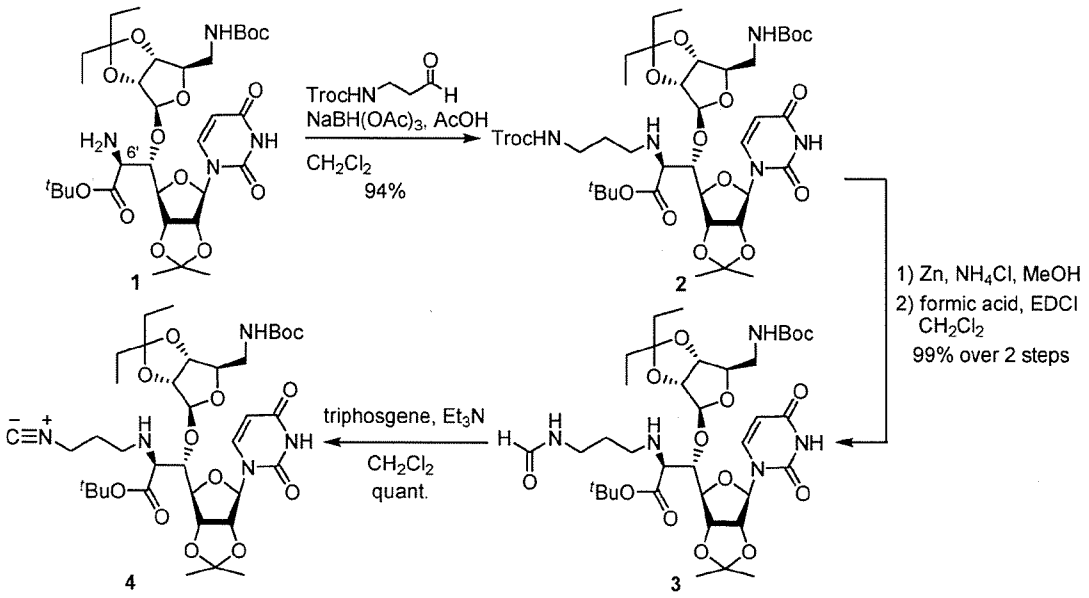
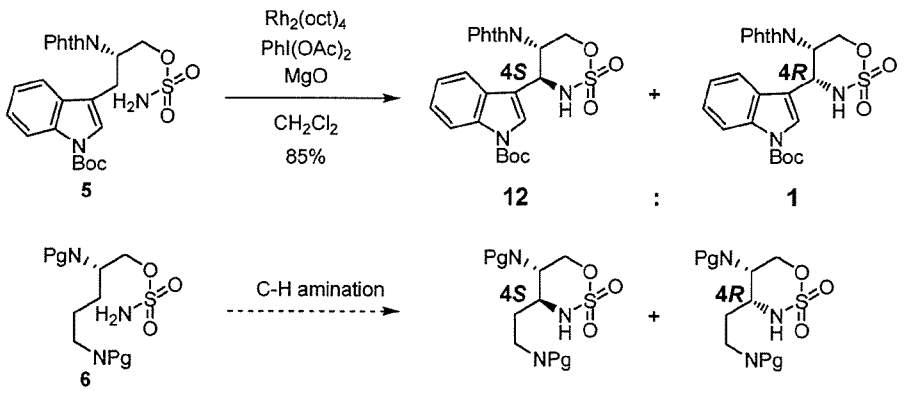


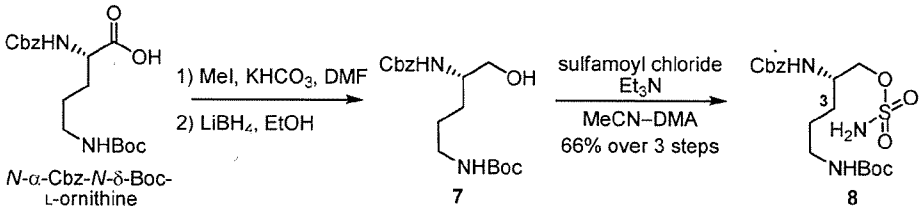
Fig. 3. Retrosynthetic Analysis



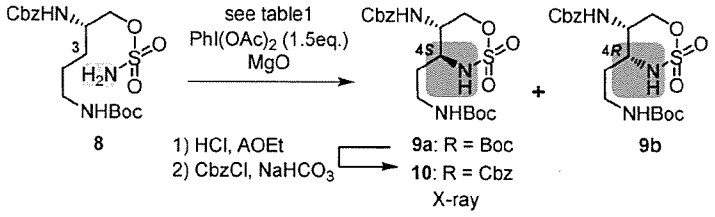
Scheme 1. Synthesis of Isonitrile Unit 4



Scheme 2. Working Hypothesis of C-H Amination Reaction



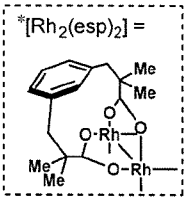
Scheme 3. Synthesis of Sulfamate **8**



Scheme 4. C-H Amination Reaction of **8**

Table 1. Optimization of C-H Amination Reaction of **8**

Entry	Catalyst	Solvent	Yield of **9** (%)	Ratio (**9a**/**9b**)
1	$Rh_2(OAc)_4$	CH_2Cl_2	21	1 : 1.6
2	$Rh_2(esp)_2$*	CH_2Cl_2	47	1 : 2.0
3	$Rh_2(esp)_2$*	$(CH_2Cl)_2$	27	1 : 2.0
4	$Rh_2(esp)_2$*	benzene	35	1 : 1.9
5	$Rh_2(esp)_2$*	CF_3Ph	45	1 : 1.5
6	$Rh_2(esp)_2$*	MeCN	45	1 : 2.0



討した（Scheme 4 and Table 1）．まずジクロロメタン中，ヨードベンゼンジアセテート存在下でロジウムアセテートを作用させたところ，3位に挿入反応が進行して得られる化合物 **9** が 21％の収率で得られた．このとき，望みとしない 4*R* の絶対立体配置を有する **9b** が 1.6 : 1.0 の主生成物として得られた（Entry 1）．なお化合物の絶対立体配置は **9a** の *tert*-ブトキシカルボニル基をベンジルオキシカルボニル基に変換した化合物 **10** 及び **9b** の X 線結晶構造解析により決定した（Fig. 4）．次に Du Bois ら

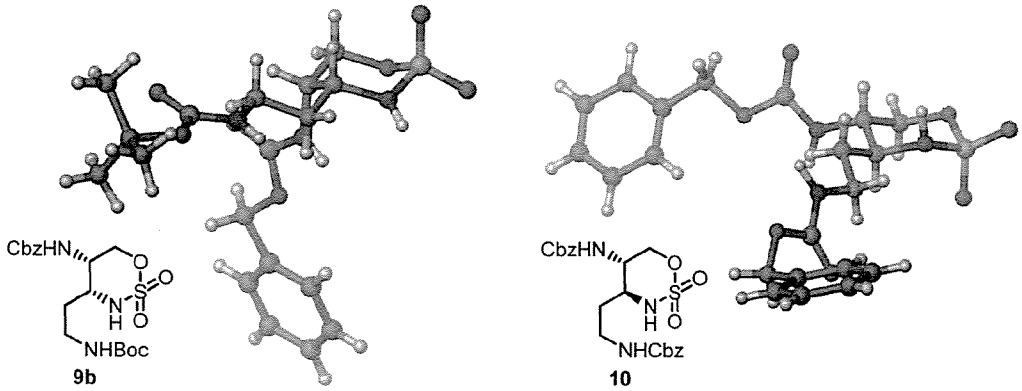


Fig. 4. X-ray Crystal Structures of **9b** and **10**

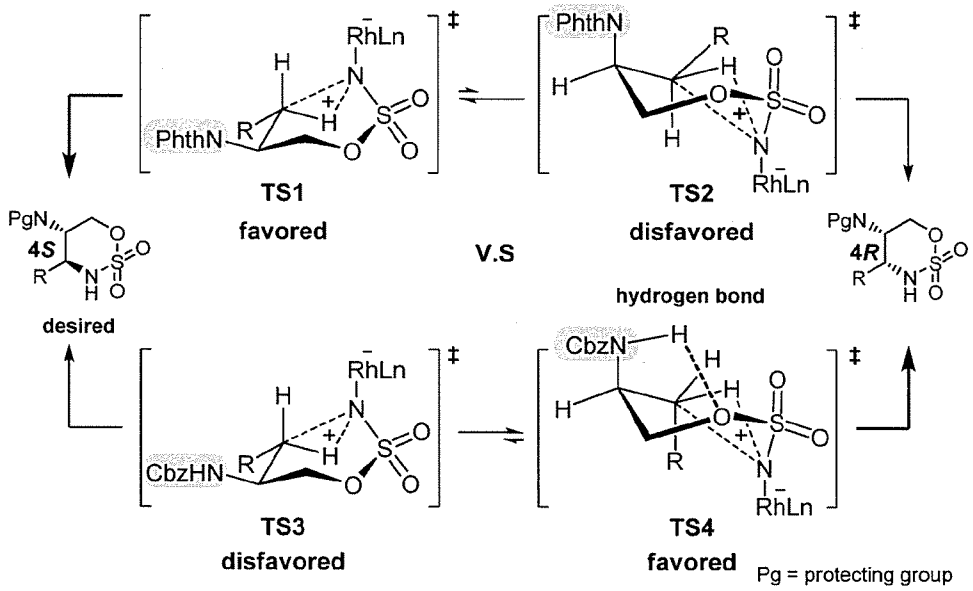
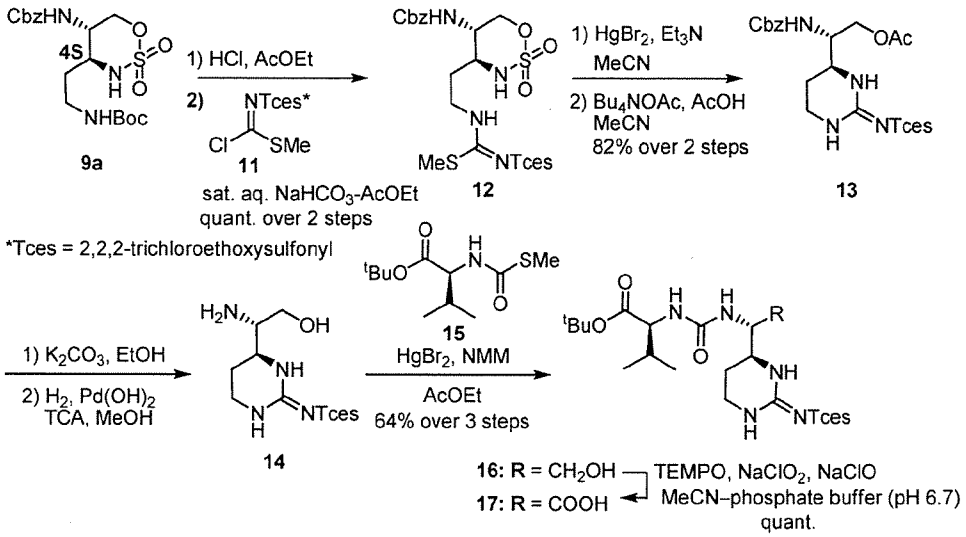


Fig. 5. Proposed Transition-state during C-H Amination Reaction

が C-H アミノ化反応において効率的な触媒と報告している[24,25]ビスロジウム（α,α,α′,α′-テトラメチル-1,3-ベンゼンジプロピオニックアシッド）（$Rh_2(esp)_2$）を触媒として反応を行ったところ，化合物 **9** の収率は 47%まで向上した．しかし，立体選択性はほとんど変化しなかった（Entry 2）．また，各種溶媒を検討した場合にも収率及び立体選択性の改善はみられなかった（Entry 3–6）．

筆者が行った C-H 挿入反応では 4 位の立体選択性が Du Bois らの報告は異なる結果が得られた．その原因の 1 つを以下のように考えた．予想される立体選択性は，フタルイミド基及び置換基 R がともにエクアトリアル位に配向した安定な遷移状態 1（TS1）を通って反応が進行することで発現し，その結果 4*S* 体が優先して得られると考えられる（Fig. 5）．しかし実際には，化合物 4*R* 体が優先して得られた．これはベンジルオキシカルボニルアミノ基の NH プロトンが，サルファマートの酸素原子と水素結合することで，本来不安定である置換基 R がアキシアル配向する遷移状態を安定化し，その結果，遷移状態 3（TS3）を経た反応が有利になり立体選択性が逆転したと考えられる．一方，Du Bois らの基質では 5 位アミノ基の保護基がフタロイル基であるため，このような相互作用は起きない．また，Du Bois らの報告では R 置換基がよりかさ高いインドリル基を有しているため遷移状態 1



Scheme 5. Synthesis of Carboxylic Acid Unit **17**

(TS1) がさらに有利になっていると考えられる.

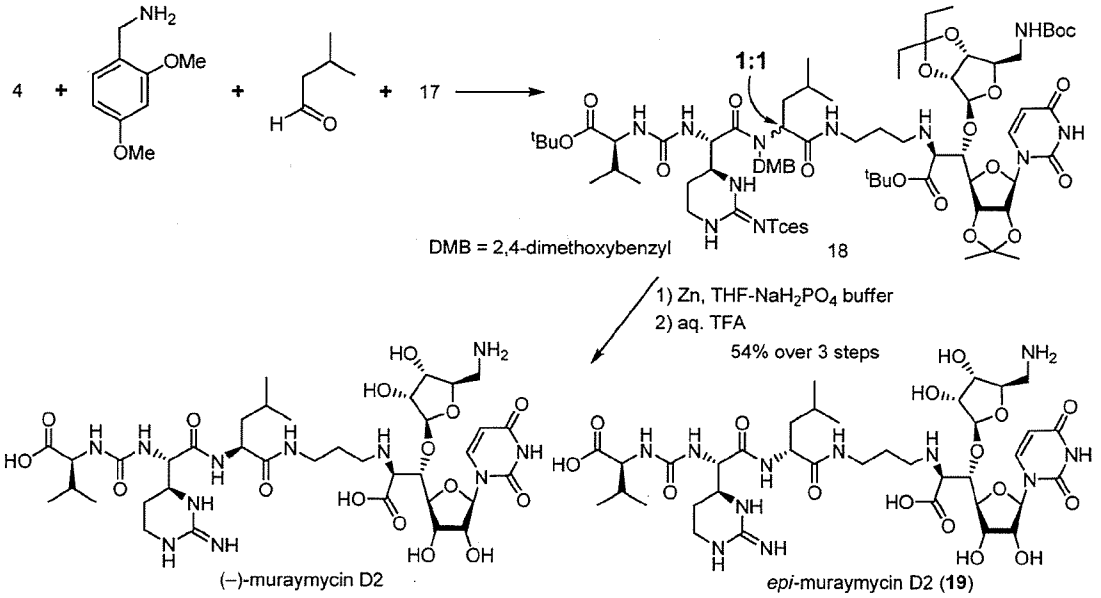
収率及び立体選択性については改善の余地があるが, SAR 研究を行う上で L-*epi*-Cpm 及び L-Cpm を含むいずれの誘導体も興味深いため MRYs の合成経路の確立を先に進めた (Scheme 5).

化合物 **9a** の Boc 基を酸処理により除去後, 化合物 **11**[26] で処理することでイソチオウレア体 **12** へ誘導した. 続いてトリエチルアミン存在下で臭化水銀 (II) で処理し環状グアニジノ基を構築した. 得られた二環式化合物に対してテトラブチルアンモニウムアセテートを作用させてジオキソオキサチアジナン環を開環してアセチル体 **13** を得た. 化合物 **13** のアセチル基を除去後, トリクロロ酢酸 (TCA) 存在下で接触還元を行い Cbz 基を選択的に除去してアミン体 **14** とし, L-Val の *S*-メチルチオカーバメート体 **15** と臭化水銀 (II) を用いるウレア化反応によりアルコール体 **16** を合成した. 最後に得られたアルコール体を酸化することでカルボン酸 **17** を合成した.[27]

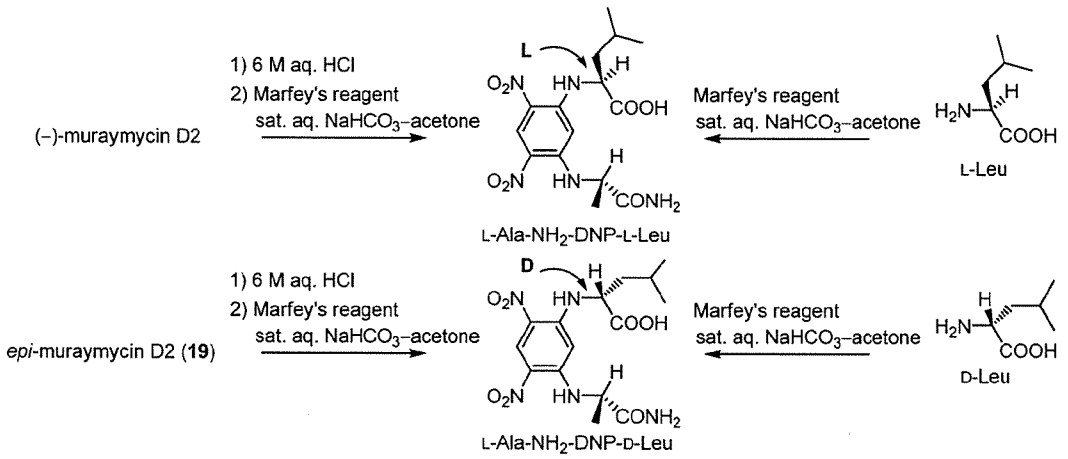
以上のように, イソニトリル **4**, カルボン酸 **17** が合成できたため, これら 2 成分と 2,4-ジメトキシベンジルアミン, イソバレルアルデヒドを用いて鍵である U-4CR を行った (Scheme 6). エタノール中室温で反応を行ったところ反応の進行が非常に遅かった. U-4CR では一般に高濃度条件で反応が加速することが知られているため, 無溶媒条件で反応を行ったところ 54% の収率で U-4CR 成績体が Leu 部の 1 : 1 のジアステレオ混合物として得られた. その後亜鉛処理により 2,2,2-トリクロロエトキシスルホニル基 (Tces 基) を除去後, 酸処理により残るすべての保護基を除去し, HPLC 精製により *epi*-MRY D2 とともに MRY D2 を得た.[28] なお, 化合物の絶対立体配置は天然物との NMR スペクトルの比較及び Scheme 7 に示すようにアミノ酸分析により決定した.[29] すなわち, 化合物を塩酸処理により構成アミノ酸に分解し, Marfey's 試薬を作用させアミノ酸を各ジアステレオマーへと誘導した. その後, L-Leu 及び D-Leu から調製した標品と HPLC の保持時間を比較することで決定した. これにより MRY D2 の初の全合成が達成できたことを確認した.

6. 脂溶性誘導体の合成とその生物活性

第 2 章で MraY が細胞内で合成された UDP-MurNAc-pentapeptide を C_{55}-P へ転位し lipid I を合成する反応を触媒する酵素であることを述べた. 合成した MRY D2 とそのエピマー体の MraY 阻害活性を, *B. Subtilis* から単離, 精製した MraY と基質として放射性同位体標識した UDP-MurNAc-pentapeptide を用いて測定した.[30] その結果, MRY D2 は MraY を強力に阻害し (IC_{50}=0.01 μM), エピマー体も良好な MraY 阻害活性 (IC_{50}=0.09 μM) を有することが明らかとなった (Table 2). 一方, これらの抗菌活性を細菌の最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration, MIC) によって評価



Scheme 6. Completion of Total Synthesis



Scheme 7. Amino Acid Analysis by Marfey's Reagents

Table 2. Inhibitory Activity of Synthesized Compounds against the MraY Enzyme

	MRY D2	19	20a	21a	22
IC_{50} (μM)	0.01	0.09	0.33	0.74	5.0

The activities of the compounds were tested against purified MraY from *B. subtilis*. The assay was performed in a reaction mixture of 10 ml containing, in final concentrations, 100 mM Tris-HCl, pH 7.5, 40 mM $MgCl_2$, 1.1 mM C_{55}-P, 250 mM NaCl, 0.25 mM UDP-MurNAc-[^{14}C] pentapeptide (337 Bq), and 8.4 mM *N*-lauroyl sarcosine. The mixture was incubated for 30 min at 37°C. The radiolabeled substrate UDP-MurNAc-pentapeptide and reaction product (lipid I, product of MraY) were separated by TLC on silica gel plates. The radioactive spots were caluculated with respect to a control assay without the inhibitor. Data represent the mean of independent triplicate determinations.

したところ,[31] いずれの化合物も全く抗菌活性を示さなかった（MIC＝＞64 μg/ml）. MraY は 10 回膜貫通型タンパク質であり，その活性中心は細胞内領域に存在することが知られていることから,[9,32,33] これら化合物は細菌細胞膜を透過することができないため抗菌活性を示さなかったと考えられた．優れた抗菌活性を有する MRY A1 や B5 はその構造中に長鎖脂溶性側鎖を有しているが（Fig. 2），抗菌活性を全く示さなかった MRY D2 は長鎖脂溶性側鎖を有しておらず，化合物の脂溶性，膜透過性が抗菌活性発現に大きな影響を与えていることが示唆された．

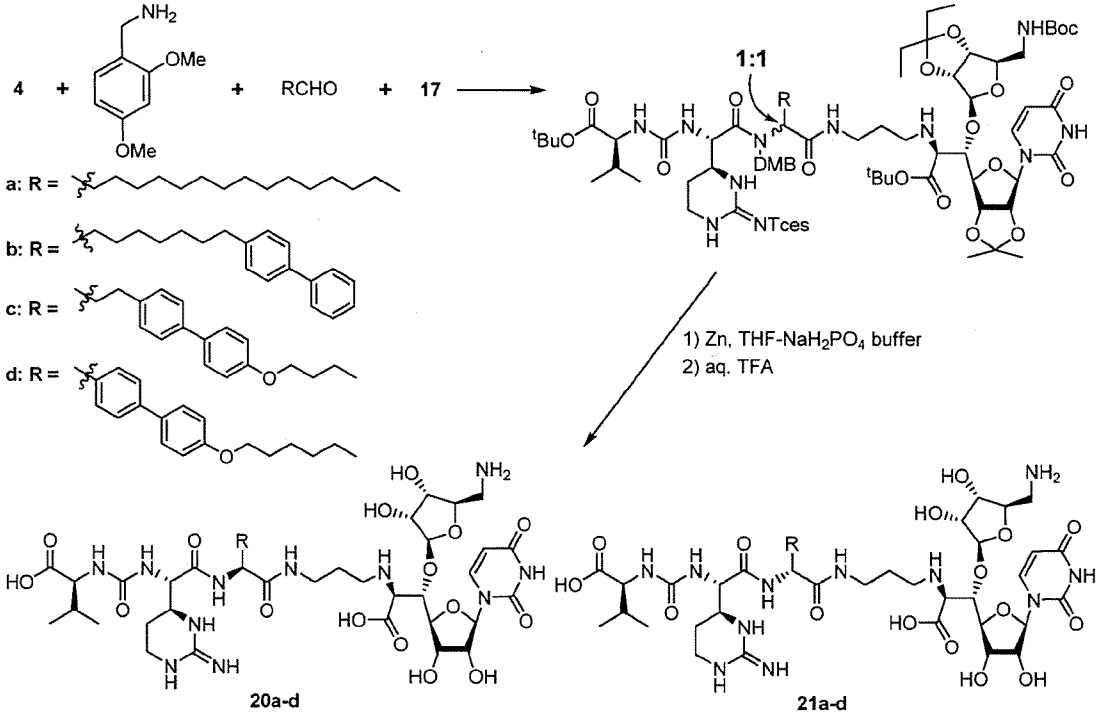
そこで筆者はMRYsの誘導体展開の手始めとして，MRYsに脂溶性側鎖を導入することで膜透過性を向上させることにした．

MRY A1やMRY B5などの脂溶性側鎖はβ-ヒドロキシロイシンに対してエステル結合しているが，このβ-アシルオキシカルボニル構造はβ-脱離による分解や，エステラーゼによる脂溶性側鎖の除去が懸念される．そこで，脂溶性側鎖を化学的，生物学的に安定な炭素-炭素結合に変換した誘導体群（Scheme 8, **20a–20d, 21a–21d**）を設計した．

U-4CRに種々の置換基を有するアルデヒドユニットを用いて反応を行った後に，保護基を除去し，2つのジアステレオマーを分離することで8種の脂溶性MRY誘導体を合成した．なお，化合物**20a**と**21a**の絶対立体配置は天然物と同様にアミノ酸分析によって決定した．また*S*体のL-Leuを含む天然物，*S*体のペンタデシルグリシンを含む天然型の**20a**のいずれもが，非天然型の*R*体**21a**よりもHPLCの保持時間が長い傾向にあったことから，その他の化合物の絶対立体配置も保持時間が長い化合物を天然型，短い化合物を非天然型と推定した．

次にこれら誘導体の抗菌活性を評価した（Table 3）．予想したように脂溶性側鎖の導入が抗菌活性に与える影響は非常に大きく，**20a-d**及び**21a-d**のいずれの化合物もMRSAやVREなどの薬剤耐性菌を含むすべての菌に対して抗菌活性を示した．ビフェニル基の導入による顕著な抗菌活性の向上はみられなかったが，ペンタデシル基を有する化合物**20a, 21a**はMRY A1を上回る抗菌活性を示し，特に薬剤耐性菌であるVREに対しても非常に優れた抗菌活性を示した．また，非天然型の**20a**の抗菌活性が天然型の**21a**を上回ったことは，SAR研究の情報として興味深く，U-4CRを用いる筆者らの合成法がSAR研究に有用であることを示していると考えられる．さらに，最も優れた抗菌活性を示した**20a, 21a**のMraY阻害活性を測定したところ，**20a**のIC_{50}値が0.33 μM, **21a**が0.74 μMと天然物には劣るものの中程度のMraY阻害活性を示したことから，これら化合物はMraY阻害によって抗菌活性を示していることが明らかとなった．脂溶性側鎖部のさらなる検討の余地はあるが，化合物の脂溶性向上に基づく，膜透過性が抗菌活性発現に非常に大きな影響を与えることが分かった．

MRYsや筆者が合成したMRY誘導体は，ウラシ

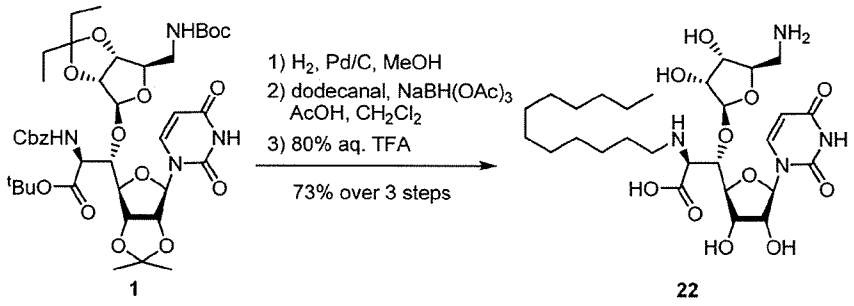


Scheme 8. Synthesis of Lipophilic MRY Analogues

Table 3. Antibacterial Activity

compound	MIC (μg/ml)					
	S. aureus ATCC 29213 (MSSA)	*S. aureus* SR3637 (MRSA)	*E. faecalis* ATCC 29212	*E. faecalis* SR7914 (VRE)	*E. faecium* ATCC 19434	*E. faecium* SR7917 (VRE)
MRY D2	>64	>64	>64	>64	>64	>64
19	>64	>64	>64	>64	>64	>64
20a	2	4	4	4	4	2
21a	2	4	2	4	0.5	0.25
20b	4	4	4	16	4	8
21b	8	16	8	16	4	4
20c	16	32	16	64	16	32
21c	64	64	32	64	4	8
20d	4	8	8	8	4	4
21d	16	16	16	16	4	8
22	>64	>64	32	64	64	64
vancomycin	1	1	1	>64	0.5	>64

MICs were determined by a microdilution broth method as recommended by NCCLS with cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CA-MHB). Serial 2-fold dilutions of each compound were made in appropriate broth, and the plates were incubated with 5×10^4 CFU of each strain in a volume of 0.1 ml. Plates were incubated at 35°C for 20 h, and then, MICs were scored.



Scheme 9. Synthesis of the Urea-dipeptide Truncated Analogues

ル塩基やアミノ基，カルボキシル基などの高極性な官能基と長鎖脂溶性側鎖を有しており，このような構造を有する化合物は一般に水溶液中でその脂溶性側鎖部で会合しミセルを形成するため界面活性剤として働くと考えられる．形成したミセルは，生体内では赤血球膜などの細胞膜を溶解する可能性があり細胞毒性が発現することが懸念される．そこで天然物を含む筆者が合成したすべての化合物の細胞毒性を肝細胞がん HepG2 細胞を用いて測定したところ，いずれの化合物も全く細胞毒性を示さなかった (IC_{50}>100 μg/ml)．

一方，MRYs のウレアジペプチド部が MraY 阻害活性及び抗菌活性に与える影響を検討するために，脂溶性側鎖を有し，かつウレアジペプチド部が欠如した誘導体 **22** を合成した (Scheme 9)．

化合物 **22** の MraY 阻害活性を測定したところ，IC_{50} 値が 5 μM であり MRY D2 と比較して大きく減弱した．また **22** は，薬剤耐性菌を含む菌に対してほとんど抗菌活性を示さなかった (Table 3)．この結果 MRY 誘導体の抗菌活性発現には化合物の脂溶性，膜透過性が重要であり，またウレアジペプチド部も重要な役割を担っていることが明らかとなった．[34]

7. おわりに

筆者は，誘導体合成を視野に入れた合成法により U-4CR を鍵として MRY D2 の初の全合成を達成した．文献記載の通り MRY D2 は MraY を強力に阻害し，エピマー体も優れた MraY 阻害活性を有することを見い出した．また，脂溶性側鎖を導入した MRY 誘導体を合成，活性評価したところ，ペンタデシル基を有する化合物 **20a**, **21a** が MraY 阻害活性を有し，薬剤耐性菌を含む細菌に対して優れた抗

菌活性を有することを見い出した．したがってMRY誘導体の抗菌活性発現には化合物の脂溶性，膜透過性が重要な要因であることが明らかとなった．脂溶性側鎖を有し，ウレアジペプチド部を欠如した誘導体であると考えられる化合物 **22** は，MraY 阻害活性が大きく減弱し，抗菌活性をほとんど示さなかったことからMRYsのウレアジペプチド部は抗菌活性発現に重要な役割を果たしていることが示唆された．今後はウレアジペプチド部のSAR研究とともにさらなる詳細なSAR研究を行うことで薬剤耐性菌に有効な新規抗菌剤開発を行っていきたいと考えている．

謝辞　本研究は北海道大学大学院薬学研究院において多くの研究協力を得て行われました．本研究を進めるにあたり，有益なるご助言，活発な討論，激励をして頂きました平野慎平博士に心より感謝致します．筆者と日々切磋琢磨し，有益なる討論を行って頂いた薬化学研究室の先輩方，後輩達，塩野義製薬株式会社の武本　浩博士，十亀弘子博士，阪上昌浩博士，関口光明博士，岡本和也さん，竹岡裕輔さんに深く感謝します．NMR測定，質量分析，元素分析を行って頂いた本学創成研究機構共用機器管理センター委託分析部門の皆様にお礼申し上げます．MraY 阻害活性の測定を行って頂いたフランスCNRSのAhmed Bouhss博士に厚くお礼申し上げます．なお，本研究の一部は，日本学術振興会若手研究B並びに塩野義製薬株式会社の補助により行われたものです．

REFERENCES

1) Payne D. J., Gwynn M. N., Holms D. J., Pompliano D. L., *Nat. Rev. Drug Dicov.*, **6**, 29–40 (2007).
2) Infectious Diseases Society of America, IDSA, "Bad Bugs, No Drugs: As Antibiotic Discovery Stagnates, a Public Health Crisis Brews," 2004.
3) Tsiodras S., Gold H. S. Sakoulas G., Eliopoulos G. M., Wennersten C., Venkataraman L., Moellering R., C., Ferraro M. J., *Lancet*, **358**, 207–208 (2001).
4) Kimura K., Bugg T. D. H., *Nat. Prod. Rep.*, **20**, 252–273 (2003).
5) Winn M., Goss R. J. M., Kimura K., Bugg T. D. H., *Nat. Prod. Rep.*, **27**, 279–304 (2010).
6) Bugg T. D. H., Lloyd A. J., Roper D. I., *Infect. Disord. Drug Targets*, **6**, 85–106 (2006).
7) Kimura K., Bugg T. D. H., *Nat. Prod. Rep.*, **20**, 252–273 (2003).
8) Bouhss A., Mengin-Lecreulx D., Le Beller D., Van Heijenoort J., *Mol. Microbiol.*, **34**, 576–585 (1999).
9) Bouhss A., Trunkfield A. E., Bugg T. D. H., Mengin-Lecreulx D., *FEMS Microbiol. Rev.*, **32**, 208–233 (2008).
10) Donachie W. D., Boyle D. S., *J. Bacteriol.*, **180**, 6429–6432 (1998).
11) McDonald L. A., Barbieri L. R., Carter G. T., Lenoy E., Lotvin J., Peterson P. J., Siegel M. M., Singh G., Williamson R. T., *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 10260–10262 (2002).
12) Carter G. T., Lotvin J. A., McDonald L. A., WO 2002085310 (2002).
13) Yamashita A., Norton E., Peterson P. J., Rasmussein B. A., Singh G., Yang Y., Mansour T. S., Ho D. M., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **13**, 3345–3350 (2003).
14) Sarabia F., Martin-Ortiz L., *Tetrahedron*, **61**, 11850–11865 (2005).
15) Dömling A., Ugi I., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **39**, 3168–3210 (2000).
16) Hirano S., Ichikawa S., Matsuda A., *Tetrahedron*, **63**, 2798–2804 (2007).
17) Hirano S., Ichikawa S., Matsuda A., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 1854–1856 (2005).
18) Hirano S., Ichikawa S., Matsuda A., *J. Org. Chem.*, **72**, 9936–9946 (2007).
19) Breslow R., Gellman S. H., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1400 (1982).
20) Breslow R., Gellman S. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 6728–6729 (1983).
21) Liang J., Yuan S., Huang J., Yu W., Che C., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**, 3464–3468 (2002).
22) Espino C. G., Wehn P. M., Chow J., Du Bois J., *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 6935–6936 (2001).
23) When P. M., Lee J., Du Bois J., *Org. Lett.*, **5**, 4823–4826 (2003).
24) Bickley J., Bonar-Law R., McGrath T., Sing N., Steiner A., *New. J. Chem.*, **28**, 425–433 (2004).

25) Espino C. G., Fiori K. W., Kim M., Du Bois J., *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 15378–15379 (2004).
26) Kim M., Mulcahy J. V., Espino C. G., Du Bois J., *Org. Lett.*, **8**, 1073–1076 (2006).
27) Zhao M., Li J., Mano E., Song Z., Tschaen D. M., Grabowski E. J. J., Reider P. J., *J. Org. Chem.*, **64**, 2564–2566 (1999).
28) Tanino T., Ichikawa S., Shiro M., Matsuda A., *J. Org. Chem.*, **75**, 1366–1377 (2010).
29) Bhuchan R., Bruckner H., *Amino Acids*, **27**, 231–247 (2004).
30) Bouhss A., Crouvoisier M., Blanot D, Mengin-Lecreulx D., *J. Biol. Chem.*, **279**, 29974–29980 (2004).
31) Maki H., Miura K., Yamano Y., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45**, 1823–1827 (2001).
32) Lloyd A. J., Brandish P. E., Gilbey A. M., Bugg T. D. H., *J. Bacteriol.*, **186**, 1747–1757 (2004).
33) Al-Dabbagh B., Henry X., El Ghachi M., Auger G., Blanot D., Parquet C., Mengin-Lecreulx D., Bouhss A., *Biochemistry*, **47**, 8919–8928 (2008).
34) Tanino T., Ichikawa S., Al-Dabbagh B., Bouhss A., Oyama H., Matsuda A., *ACS Med. Chem. Lett.*, **1**, 258–262 (2010).