HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	可溶性リピドⅡ誘導体並びにシュードウリジマイシンの構造活性相関研究［全文の要約］
Author(s)	大川, 凌太郎
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(臨床薬学)
Dissertation Number	甲第16303号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95310
Type	doctoral thesis
File Information	Ryotaro_Okawa_summary.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 の 要 約

博士の専攻分野の名称　博士（臨床薬学）　氏　名　大川凌太郎

学 位 論 文 題 名

可溶性リピドⅡ誘導体並びにシュードウリジマイシンの構造活性相関研究

近年、薬剤耐性菌感染症の拡大に伴い、これに対抗し得る新規抗菌薬の開発が急務とされている。薬剤耐性菌には一般的な抗菌薬に対する耐性機構が存在するため、既存薬に依存しない新規作用標的または新規作用機序に基づく薬剤開発が望まれる。本研究では、新規標的として期待されている細菌の細胞分裂活性化複合体ディビソームの機能解明と、新規作用機序を有する抗菌性天然物シュードウリジマイシンを基盤として、創薬リードの創出を目指した構造活性相関研究を実施し、有機合成化学的手法によって、これら両側面から薬剤耐性菌に対する抗菌薬開発にアプローチした。

ディビソームは、細菌の細胞分裂に伴って、細菌細胞壁の構成成分であるペプチドグリカンの切断・合成・再結合を担う一連の巨大酵素複合体である。ペプチドグリカンは細菌特異的に存在することから、その構造改変を担うディビソームは抗菌薬の新規作用標的として近年注目を集めている。一方で、この細胞分裂に係る本酵素群の動的な構造変化は未解明であり、この機構の分子レベルでの理解は新規抗菌薬開発の足掛かりになることが期待される。ディビソームの動的な構造解析を行う方法の一つに、本酵素群がペプチドグリカンの前駆体であるリピドⅡを認識してそれを重合する過程を、クライオ電子顕微鏡等により捉える方法がある。しかし、リピドⅡは 55 炭素からなる脂質部を有することから水溶性が低く、本基質をこの構造解析にそのまま適用することは困難であった。そこで本研究では、リピドⅡの水溶性の向上を目的としてその長鎖脂質部を適切に変換するとともに、この構造変換が酵素群の認識に与える影響を調査すべく、リピドⅡ脂質部誘導体の合成とその構造活性相関研究を実施した。

リピドⅡまたはその誘導体のこれまでの合成は、ペプチドー二糖ユニットとアルキルリン酸間での二リン酸化を介して脂質部を導入する方法で行われてきた。しかし、多数の脂質部誘導体の合成を目的とする本研究では、界面活性を示すアルキルリン酸を直線的に合成する手段は煩雑である。そこでリピドⅡの脂質部を二つに分割し、ホスホロアミダイトの炭素鎖末端にアミノ基を導入したビルディングブロック 1 と様々な脂溶性側鎖を有する塩化アシルからなるビルディングブロック 2 を用いた収束的な合成法をとることとした。即ち、本合成ではビルディングブロック 1 と固相に担持したペプチドー二糖ユニットとの二リン酸化後に、脂質末端のアミノ基を足がかりに様々なビルディングブロック 2 を縮合することで行った。電荷をもたないビルディングブロック 1 の合成は比較的容易である上に、ビルディングブロック 1, 2 を種々変更することで多様なリピドⅡ脂質部誘導体の合成を可能とした。得られた誘導体の生物活性評価は、ペプチドグリカン合成を担うディビソーム酵素群の一部と種々の誘導体を混合し、その重合活性を評価することで実施した。その結果、一部の誘導体にはペプチドグリカン断片を形成するものが観察され、それらが基質として酵素に認識されていることを確認した。一方で、本評価系にリピドⅡを同時に添加した場合は、多くの誘導体が基質と競合してペプチドグリカン合成を阻害する様子が観察された。

シュードウリジマイシン（PUM）は、5′–アミノシュードウリジンが、*N*–アミジニルグリシンと *N*–ヒドロキシグルタミンからなるジペプチドと縮合した特徴的な構造を有する。本天然物は、ウリジン 5′–*O*–三リン酸と競合して細菌の RNA ポリメラーゼの転写過程を阻害する。これは既存の抗菌薬とは異なる新たな作用機序であり、薬剤耐性菌にも抗菌活性を示すことから、本化合物は有望な新規抗菌薬リードとして期待されている。一方で、化学安定性と酵素

阻害活性の低さに由来して、その抗菌活性は医薬品リードとしては不十分である。そこで本研究では、シュードウリジマイシンの分解機構への理解と X 線共結晶構造に基づく論理的な薬物設計を通じて、これら二つの問題を解決しながら構造活性相関研究を実施した。

シュードウリジマイシンの構造活性相関研究にあたり、効率的な誘導体合成を指向してまずは全合成を行った。過去に 2 例の報告がある本化合物の全合成は、いずれも古典的なペプチドカップリングに基づいており、*N*–ヒドロキシグルタミンの構築と求核性の低い *N*–ヒドロキシアミノ基への縮合反応が容易ではなく、PUM の全合成に 10 工程以上を要する。本研究では、オキシムを用いた Ugi 反応型の多成分縮合反応を基盤として合成した。本反応は、シュードウリジンから導いたイソシアニドと、アルドキシムおよびカルボン酸に加えて $ZnCl_2$ 存在下で進行する。本研究では、Ugi 反応を鍵反応とする全合成経路の確立によって、この一反応で *N*–ヒドロキシアミドを含む PUM の母骨格の構築を可能とした上に、その全合成をシュードウリジンから最長直線工程 9 工程で達成した。以降、PUM の誘導体合成は、確立した全合成経路に基づき、Ugi 反応に用いる基質の変更や Ugi 成績体に対する化学修飾を通して行った。

シュードウリジマイシンの構造活性相関研究にあたり、まずはその化学安定性に関する情報を収集した。過去の報告によると、PUM は二通りの分解経路を経ることから、それら経路を抑制できるような第一世代誘導体を合成した。それらの化学安定性と酵素阻害活性評価を実施したところ、一方の分解経路を抑制しながら、酵素阻害活性を維持できる構造情報を得た。第二世代誘導体では、もう一方の経路に基づく分解を抑制できるような設計を、報告されている PUM と RNA ポリメラーゼの X 線共結晶構造を参考に行った。先と同様に二種の評価を実施したところ、第二世代誘導体の多くは、化学安定性が PUM より 2-5 倍向上した一方で、酵素阻害活性はほとんどが減弱した。そこで、続く誘導体設計においては、それまでに合成した誘導体の化学安定性と化合物の部分構造における塩基性に相関があることに着目した。第三世代誘導体の設計では、この塩基性を調整することで PUM の分解速度を低下させつつ、酵素阻害活性を維持する方針とした。最終的に得られた誘導体は、天然物と比較して酵素阻害活性と抗菌活性を維持しつつ、水素結合ドナー数やアクセプター数、オクタノール–水分配係数（c$\log P$）といった医薬品に求められる物理化学パラメーターに加えて、化学安定性が改善した。

本研究では、抗菌薬の新規作用標的として注目を集める細胞分裂活性化複合体ディビソームについて、その動的な構造解析に資するリピドⅡ脂質部誘導体の獲得を目的に構造活性相関研究を実施した。合成した誘導体は、ディビソームの細胞壁合成を阻害したり、その基質となることを示した。また、新規作用機序を有し、薬剤耐性菌にも抗菌活性を示すシュードウリジマイシンについて、その構造活性相関研究を実施した。本研究を迅速に進めるべく、効率的な誘導体合成を指向してまずはその全合成を行った。続く PUM の構造活性相関研究は、化合物の自己分解の抑制と X 線結晶構造に基づく論理的な薬物設計に基づき遂行した。第三世代に渡る誘導体の化学安定性評価と酵素・抗菌活性評価を通じて、その酵素阻害・抗菌活性を維持しつつ、化学安定性や物理化学的パラメーターを改善した誘導体を獲得した。