

## 論文の内容の要旨

論文題目 耐性グラム陽性菌感染症治療薬を指向した新規キノロンカルボン酸誘導体の合成と生物活性評価に関する研究

氏名 稲垣裕章

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) やペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP)、バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) 等の多剤耐性グラム陽性菌による細菌感染症が問題となっている。これらの感染症に対する治療薬としてバンコマイシンやリネゾリド等の薬剤が用いられているが、これらの薬剤は殺菌性の乏しさ、耐性誘導、副作用等の問題を抱えている。一方、キノロン抗菌薬は殺菌的な作用メカニズムを有しており、体内動態が良好で、高い安全性を有することから、耐性グラム陽性菌感染症治療薬として好適な資質を有していると言える。キノロン抗菌薬は元来グラム陰性菌に対して抗菌力が強く主に尿路感染症治療薬として用いられてきたが、近年構造変換によって肺炎球菌等のグラム陽性菌に対して抗菌力を有する化合物が幾つか発表されており、さらなる構造変換によって多剤耐性グラム陽性菌に対して強力な抗菌活性を示す誘導体を得ることも可能と考えられる。

以上で述べた考えから、私は、耐性グラム陽性菌感染症に対して有効でかつ安全性の高いキノロン誘導体を得るべく研究に着手した。

グラム陽性菌に対して高い抗菌活性を有するキノロン誘導体として、3-(aminomethyl)pyrrolidin-1-yl 基を 7 位に有するキノロン誘導体が知られているが、本誘導体は同時に強い遺伝毒性を示すことが知られている。私は、本誘導体のうち特に抗グラム陽性菌活性が高い 2 つの誘導体：7-(2-amino-8-azabicyclo-[4.3.0]non-8-yl)-キノロン誘導体 1、及び 7-[-3-(1-aminocycloprop-1-yl)pyrrolidin-1-yl]-キノロン誘導体 2 (Figure 1) に着目し、これら誘導体の有する高い抗グラム陽性菌活性を維持しつつ遺伝毒性を低減する 2 系統の化合物デザインを行い、デザインした化合物の合成とその抗菌活性評価及び遺伝毒性評価を行った。

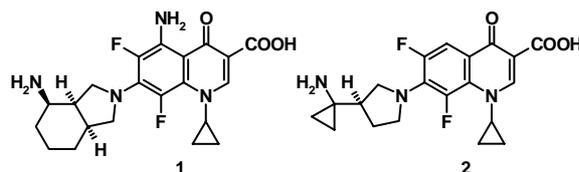
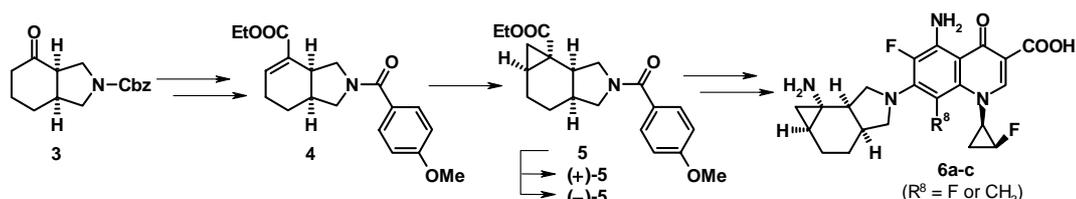


Figure 1

### 1. シクロプロパン環を縮環した 7-(2-amino-8-azabicyclo[4.3.0]non-8-yl)-キノロン誘導体

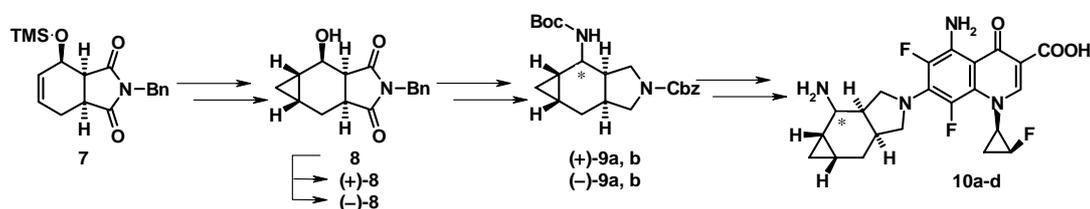
[ デザイン・合成 ] 誘導体 1 の 7 位極性アミノ基は、飽和 6 員環のフリップのために多様な配向を採り得ると思われ、このような多様性が遺伝毒性を引き起こしている可能性が考えられたため、シクロプロパン環を飽和 6 員環に縮環してフリップを制限し、本アミノ基の配向を制御することにより遺伝毒性の低減を図ることとした。

デザインした誘導体のうち、誘導体 6a-c は以下のように合成した (Scheme 1)。 $\alpha,\beta$ -不飽和エステル誘導体 4 に *S*-メタニドを作用させてトリシクロ誘導体 5 をまずラセミ体として合成した。5 を光学活性カラムによって両エナンチオマーに分割し、それぞれを官能基変換の後、高い抗グラム陽性菌活性を維持し遺伝毒性を低減する効果を有するキノロン母核へ導入し 6a-c を得た。



Scheme 1

誘導体 10a-d は以下のように合成した (Scheme 2)。ビシクロ誘導体 7 にジアゾメタンを作用させてトリシクロ誘導体 8 をまずラセミ体として合成した。8 を光学活性カラムによって両エナンチオマーに分割し、官能基変換の後にそれぞれを 2 位アミノ基の立体配置に基づく 2 つのジアステレオマーに分割した ((+)-9a, (+)-9b & (-)-9a, (-)-9b)。得られた 4 つの立体異性体をそれぞれ官能基変換の後にキノロン母核へ導入し 10a-d を得た。



Scheme 2

[ 抗菌活性試験 ] シクロプロパン縮環化合物のうち、右旋光性の 7 位置換基合成中間体から導いた化合物はグラム陽性菌に対して非常に高い抗菌活性を示し、その抗菌活性は市販のキノロン薬や他系統の耐性グラム陽性菌感染症治療薬を大きく凌駕するものであった。また、これら

の化合物はシクロプロパン非縮環化合物とほぼ同等の抗菌活性を示し、シクロプロパン環の縮環は高い抗菌活性を維持することが明らかとなった。

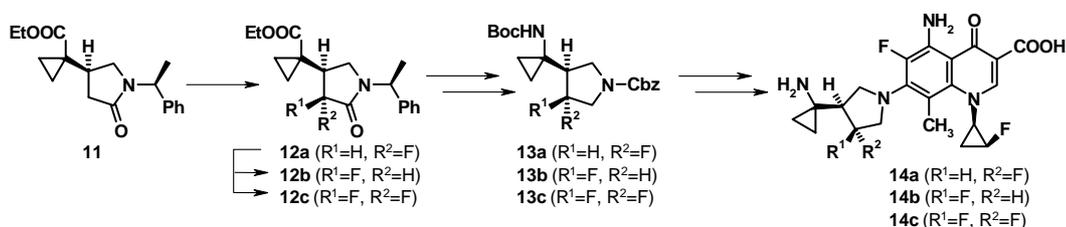
[ マウス静脈内単回投与毒性試験及び末梢血小核試験 ] 上記で高い抗菌活性を示した化合物の遺伝毒性を評価するため、マウス静脈内単回投与毒性試験及びマウス末梢血小核試験を行った。単回投与毒性試験では、ほとんどの化合物が 100 mg/kg にて生存例が見られず毒性が比較的強かった。小核試験ではほとんどの化合物が陽性を示した。

[ ヒトトポイソメラーゼ II 阻害活性試験 ] 遺伝毒性に対するシクロプロパン環導入の効果を精査すべくヒトトポイソメラーゼ II 阻害試験を行った。キノロン誘導体の遺伝毒性はヒトトポイソメラーゼ II の阻害によると考えられている。試験の結果、ほとんどのシクロプロパン縮環化合物は、シクロプロパン非縮環化合物の 1/3 以下の阻害活性しか示さず、シクロプロパン環の縮環が遺伝毒性を低減する可能性があることが示された。

## 2. フッ素原子を導入した 7-[(R)-3-(1-aminocycloprop-1-yl)pyrrolidin-1-yl]-キノロン誘導体

[ デザイン・合成 ] 7 位極性アミノ基近傍へのフッ素原子の導入によって遺伝毒性が低減するという報告を参考に、本 7 位置換基の 4 位にフッ素原子を導入した化合物をデザインした。

デザインした誘導体 14a-c は以下のように合成した (Scheme 3)。 (S)-1-Phenylethylamine を利用して合成した光学活性なピロリドン誘導体 11 の 4 位を LDA と N-fluorobenzenesulfonimide を用いて *trans* 選択的にフッ素化して 12a とし、12a のフッ素原子の異性化によって *cis*-フルオロ口体 12b を、また 12a のさらなるフッ素化によってジフルオロ口体 12c を合成した。12a-c は、それぞれ官能基変換によって 13a-c とし、キノロン母核に導入して 14a-c を得た。



Scheme 3

[ 抗菌活性試験 ] フッ素原子導入化合物はいずれもグラム陽性菌に対して非常に高い抗菌活性を示し、その抗菌活性は市販のキノロン薬や他系統の耐性グラム陽性菌感染症治療薬を大きく凌駕するものであった。また、これらのフッ素原子導入化合物はフッ素原子非導入化合物とほぼ同等の抗菌活性を示し、フッ素原子の導入は高い抗菌活性を維持することが明らかとなった。

[ マウス静脈内単回投与毒性試験及び末梢血小核試験 ] 単回投与毒性試験では、14a > 14c > 14b の順で毒性が減弱し、本毒性が導入したフッ素原子の立体配置によって影響を受けることが明らかとなった。末梢血小核試験では、フッ素原子導入化合物はいずれも小核陰性を示し、フッ素原子の導入は遺伝毒性を低減することが明らかとなった。

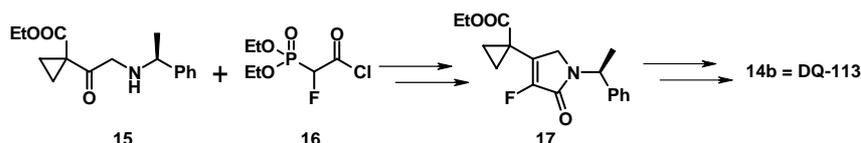
[ **14b** (= DQ-113) の多剤耐性グラム陽性菌に対する抗菌活性 ] 高い抗菌活性を示しかつマウス静脈内単回投与毒性試験ならびに末梢血小核試験にて高い安全性を示した **14b** について、臨床分離された各種多剤耐性グラム陽性菌に対する抗菌活性を測定した。**14b** は、キノロン耐性 MRSA や PRSP、VRE に対して、市販のキノロン薬や他系統の耐性グラム陽性菌感染症治療薬を凌駕する高い抗菌活性を示した。

### 3. *cis*-フルオロ体 **14b** (= DQ-113) の合成法改良

*cis*-フルオロ体 **14b** の工業化に向け、大量合成法の開発を行った。初期合成法は、a) -78 にて強塩基を使用する事、b) 高価なフッ素化試薬を使用する事、c) 多工程 (16 工程) で総収率 (0.6%) が低い事、等の問題を抱えており、実用的でなかった。

[ Reformatsky 反応を鍵工程とする改良合成法 ] まず Reformatsky 反応を鍵工程とする改良合成法を開発し、問題 a) 、 b) を解決した。本法では、フッ素原子の導入を bromofluoroacetate を用いる Reformatsky 反応によって行い、*cis*-立体配置の構築をフルオロオレフィン誘導体への水素添加によって行った。本法によって、14 工程、総収率 2.1% で **14b** を得た。

[ 分子内 Horner-Wadsworth-Emmons (HWE) 反応を鍵工程とする改良合成法 ] 上記改良合成法は、幾つかの問題点を解決したものの、d) 2 回の異性体分離工程を含む事、e) 依然として多工程である事、f) キノロン母核への 7 位置換基導入反応が低収率である事、等の問題を抱えていた。そこで、新たに分子内 HWE 反応を鍵工程とする改良合成法を開発した (Scheme 4)。アミン成分 **15** と酸成分 **16** とを縮合し、得られたケトリン酸エステル誘導体を分子内 HWE 反応に処すことにより **17** を短工程で得た。さらに、7 位置換基導入反応を *N*-methylpiperidine 存在下 75 にて 7 日間行うことにより、11 工程、総収率 11.9% で **14b** を得ることに成功した。



Scheme 4

## 総括

耐性グラム陽性菌感染症に対して有効かつ安全性の高いキノロン化合物を得るために、高い抗グラム陽性菌活性を示すと報告されているキノロン誘導体 **1** 及び **2** の遺伝毒性を低減する化合物をデザインし、**1** についてはシクロプロパン縮環誘導体を、**2** についてはフッ素原子導入誘導体を数種合成した。合成した誘導体はいずれも高い抗菌活性を維持し、さらに遺伝毒性の低減もしくは低減傾向を示した。特に *cis*-フルオロ体 **14b** (= DQ-113) はマウス静脈内単回投与毒性試験においても高い安全性を示し、臨床分離された各種多剤耐性グラム陽性菌に対しても高い抗菌活性を示した。また、煩雑・多工程・低収率であった **14b** の合成法の工業化に向けた改良研究を行い、分子内 HWE 反応を鍵工程とする実用的な合成法を開発した。