

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 村松 康範

トランスロケース I は細菌細胞壁合成における重要なステップを担う酵素で、細菌の生育に必須である。本酵素の阻害剤として、ムレイドマイシンなどが知られているが、臨床開発された薬剤は未だない。しかし、これまでの研究からトランスロケース I はヒトと細菌との間で選択性が期待できる、有望なターゲットであると考えられている。

本論文は、従来の抗生物質とは作用機作の異なる新規抗菌剤の取得を目指してトランスロケース I 阻害剤探索を行い、微生物の二次代謝産物から見出した新規カプラマイシン類縁体である A-500359 類、A-503083 類の研究に関するものである。

(1) トランスロケース I 阻害剤スクリーニング系の構築

酵素の基質である UDP-MurNAc-pentapeptide を塩化ダンシルで蛍光標識し、酵素反応の進行に伴い蛍光量が増大する簡便なアッセイ系を構築した。土壌分離菌約 10,000 株の培養上清について本酵素に対する阻害物質の探索を行った結果、A-500359 株と A-503083 株の培養上清に強い酵素阻害活性を見出した。

(2) A-500359 類の単離精製および活性

A-500359 株の培養液について各種クロマトグラフィーを行い、A-500359 A~D および G を単離した。A-500359 B は既知カプラマイシンであったが、他はカプラマイシン新規類縁体であった。これら化合物の酵素阻害活性は IC₅₀ 値で 0.017~0.53 μ M を示し、特に A-500359 A とカプラマイシンは抗酸菌に対し特異的な抗菌活性を示した。

誘導体合成の原料として重要な A-500359 A の脱アミノカプロラクタム体の取得を目的として、リジン-ジアミノピメリン酸生合成経路のアスパルトキナーゼを阻害する S-(2-aminoethyl)-L-cysteine (AEC) を添加して A-500359 株の培養を行った結果、目的物質である A-500359 E、F および H が得られた。

(3) カプラマイシン、A-500359 A および E の生産性向上

炭素源をマルトースに、窒素源を肉エキスとポリペプトンにし、培養温度を 28°C から 23°C とした結果、カプラマイシンの生産力価は 5 μ g/ml から 100 μ g/ml に向上した。また、その培地に Co²⁺ とイーストエキスを加えることにより A-500359 A の生産力価は 1 μ g/ml から 600 μ g/ml に向上した。また、炭素源をグルコースに、窒素源をポリペプトン、肉エキス、コーンステープリカーおよび生イーストとし、さらにグルコースを培養途中でフィードすることにより A-500359 E の生産力価は <1 μ g/ml から 340 μ g/ml に向上した。

(4) A-500359 誘導体の合成と活性

抗菌活性の向上を目指し A-500359 A におけるリボースの 2' 位に様々なアシル側鎖を付加した結果、デカノイル基の付加が最も高い抗菌活性を示した。この化合物は各種抗酸菌に対し 0.063~3.13 $\mu\text{g/ml}$ の MIC を示し、A-500359 A と比較して、4~60 倍抗菌活性が向上した。また、アミノカプロラクタム環をフェニル基に置換した化合物は A-500359 A と比較して 2~8 倍抗菌活性が向上した。

A-500359 A およびその誘導体について各種結核菌に対する抗菌活性を測定した結果、多剤耐性菌、感受性菌ともほぼ同等の MIC (0.5~16 $\mu\text{g/ml}$) を示した。また、これらの化合物について *in vivo* 結核菌感染マウスで治療効果を検討した結果、有意に生菌数が減少した。

(5) A-503083 類の単離精製および活性

A-503083 株の培養上清に阻害活性が見出されたため各種クロマトグラフィーを行い、A-503083 A、B、E および F を単離した。これらの化合物は A-500359 類の 2' 位が *O*-カルバモイル基で置換された新規化合物であったが、いずれも酵素阻害活性および抗菌活性は A-500359 A には及ばなかった。

A-500359 類およびその誘導体は抗酸菌に対して特異的な抗菌活性を有し、その中の代表的な化合物は *in vivo* における結核菌感染実験で生菌数を減少させる効果が見られたことから、A-500359 類は新たな作用メカニズムを有する抗結核薬の候補として有用である。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。