

# 発表番号 1

## 抗真菌性を有するアミノ酸誘導体

佐賀大学  
農学部生命機能科学科

准教授 上田 敏久

### ■ 新技術の概要

現在、生活環境の変化から『真菌（カビ）』は脅威となりつつある。そこで、安心感と合成の容易さをもつ抗真菌剤の開発を目指した結果、抗真菌性アミノ酸誘導体を見出した。この化合物には、高い安全性、設計の自由度、大量合成の容易さという特徴がある。さらに、活性の発現機構解明という基礎化学としての面白さもある。

### ■ 従来技術・競合技術との比較

従来の抗真菌性化合物には、使用量や使用対象の制限による消費者の不安、入手や合成の困難さなどがあった。しかし、今回の抗真菌性化合物はアミノ酸由来の簡単なものであり、それらの問題を克服している。

### ■ 新技術の特徴

今回紹介する化合物は基本の物質が天然成分アミノ酸であり、与える安心感が大きい。また、構造が簡単・合成が容易という利点のため、大量供給が容易であり、さらに分子として今後の展開の幅が広い。

### ■ 想定される用途

- 抗真菌剤
- 飲食料や化粧料の添加剤
- 抗真菌性の医薬組成物

# 抗真菌性を有するアミノ酸誘導体

国立大学法人 佐賀大学  
農学部生命機能科学科

准教授 上田 敏久  
教授 宗 伸明  
教授 光富 勝  
講師 関 清彦

# 研究背景

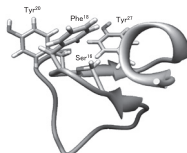
- 『カビ』は...
  - 古来から、日本人の生活とは切り離せないものであった。
  - しかし、現代では、生活環境の変化によって、脅威となりつつある。
- そこで、食品由来のペプチド性抗真菌剤の開発を目指した。
  - 食品由来
    - 高い安全性 ⇒ 食品添加物、化粧品添加物、医薬品としての応用
  - ペプチド
    - 設計の自由が高い。大量合成が容易である。
  - 抗真菌剤の研究
    - 活性の発現機構解明 ⇒ 基礎化学(科学)としての面白さ

# 研究の経緯

Ac-AMP1&2



赤字の残基はキチン結合性に重要とされる残基  
(Ac-AMP2はAc-AMP1の最後にR残基が付く)



Amaranthus caudatusは、南米原産の雑草の一種である。日本では「ヒモゲイトウ」などの名前で知られる觀賞用植物であった。しかし、その種子は昔から「仙人穀」とも呼ばれ、高栄養価・低アレルギー性であることから、近年、健康食品の一つとして話題になった。

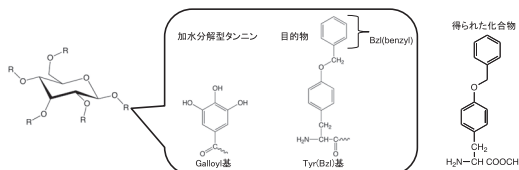
NMRによって決定されたAc-AMP2の構造

# 研究の経緯

- キチン結合性ペプチドの抗真菌性について
  - 芳香族基の集中 ⇨ キチン結合性 ⇨ 抗真菌性
  - 「芳香族アミノ酸の量や質を変化させたAc-AMPアナログは、その抗真菌性が変化する」というレポートあり。
- ならば、芳香族が集中した構造をもつ化合物は抗真菌性をもつのか？
  - 芳香族アミノ酸を多く含む環状ペプチド
  - 加水分解型タンニン
    - 抗真菌性をもつ加水分解型タンニンがある (Z. Naturforsch. 55c, 467 (2000).)

# 研究の経緯

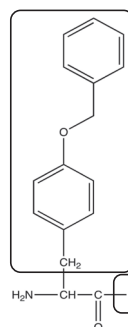
- 加水分解型タンニンを真似た化合物の合成を試みた。
  - 合成: グルコース + Tyr誘導体 + DCC + DMAP



- 結果: 目的物が得られなかった。しかし、生成物には抗真菌性があった。構造の同定を行った結果、H-Tyr(Bzl)-OCH<sub>3</sub>であった。

⊕ Tyr誘導体だけでも抗真菌性を示すことがわかった。

# 今回紹介する化合物

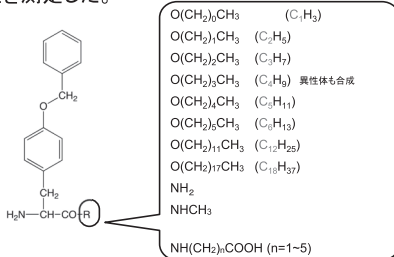


側鎖構造の抗真菌性への影響

C端側の基の抗真菌性への影響

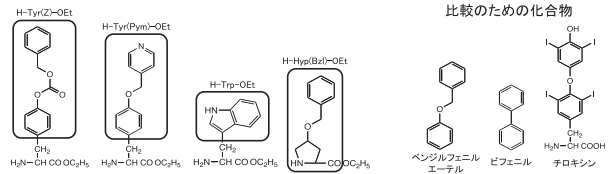
## C端側の基の検討

- 次のTyr誘導体(Cの数を変えたエステル、アミドなど)を合成し、抗真菌活性を測定した。



7

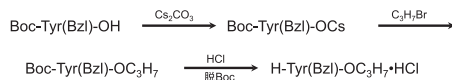
## 側鎖構造の検討



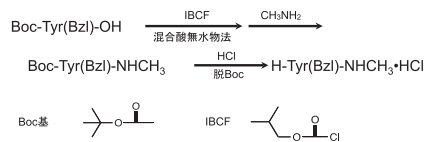
8

## Tyr誘導体の合成

- エステルの合成例



- メチルアミドの合成



9

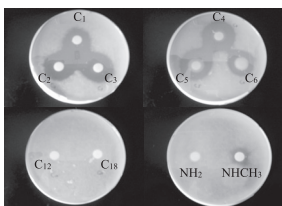
## 抗真菌活性の測定

- ポテトデキストロース寒天培地を加熱溶解した。
- 60 °Cに冷ました後、*Valsa ceratosperma* Maire (リンゴ腐爛病菌) 孢子懸濁液を混ぜた。
- 培地をシャーレにまき、室温で固めた。
- 中央のペーパーディスクにサンプル (25 mg/ml) を50 μlスポットした。
- 25 °Cで2日間培養後、ペーパーディスク周りの溶菌斑を観察した。



10

## 結果: 抗真菌活性 C端側の基



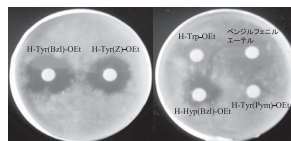
C<sub>4</sub>の異性体では、直鎖が最も活性あり。

チロシン誘導体	阻止円の大きさ*
C <sub>1</sub>	++
C <sub>2</sub>	++
C <sub>3</sub>	++
C <sub>4</sub>	+++
C <sub>5</sub>	++
C <sub>6</sub>	++
C <sub>12</sub>	-
C <sub>18</sub>	-
NH <sub>2</sub>	-
NHCH <sub>3</sub>	+

\* 阻止円の直径は、ペーパーディスクを含む直径-10mm: -, 10-20mm: +, 20-30mm: ++, 30mm-: +++で示した。濃度の違う標準は阻止円の面積から25 mg/mLに換算して直径を計算した。

11

## 結果: 抗真菌活性 側鎖構造



アミノ酸誘導体	阻止円の大きさ*
H-Tyr(Bzl)-OEt	+++
H-Tyr(Z)-OEt	++
H-Tyr(Pym)-OEt	+
H-Trp-OEt	++
H-Hyp(Bzl)-OEt	++
ベンジルフェニルエーテル	++
ピフェニル	-
L-チロキシン	-

\* 阻止円の直径は、ペーパーディスクを含む直径-10mm: -, 10-20mm: +, 20-30mm: ++, 30mm-: +++で示した。濃度の違う標準は阻止円の面積から25 mg/mLに換算して直径を計算した。

12

## C端側の基について

- Tyr誘導体 (側鎖をBzl基で保護したTyrの直鎖アルキルエステルとアミド)を合成した。
- エステルの長さ(Cの数)によって活性の強さに違いがあった。C<sub>4</sub>(特に直鎖型)がいちばん強く、C<sub>12</sub>とC<sub>18</sub>には活性がなかった。
- アミド体には活性がなかったが、メチルアミド体には活性があった。

13

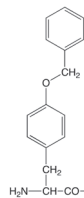
## 側鎖構造について

- Tyr(Z)、Tyr(Pym)、Trp、そしてHyp(Bzl)のエチルエステルを合成した。
- 程度の差はあるが、Tyr(Z)、Tyr(Pym)、Trp、Hyp(Bzl)の各エチルエステルには抗真菌性があった。
- 比較として、ベンジルフェニルエーテル、ビフェニル、チロキシンの抗真菌活性を測定したところ、ベンジルフェニルエーテルには活性があったが、ビフェニルとチロキシンの活性がなかった。

14

## 今回の化合物の長所

- 簡単なアミノ酸誘導体であるために、容易に多量に合成できる。
- アミノ酸ベースであるために、他の真菌剤よりも安全であると考えられる(細胞毒性については検討中)。

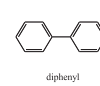
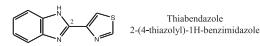
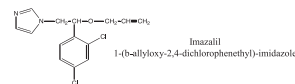


※ 直鎖ブチル(C<sub>4</sub>)エステルがいちばん高活性。  
R = OCH<sub>3</sub> - OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>

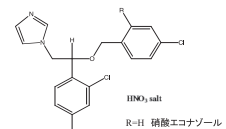
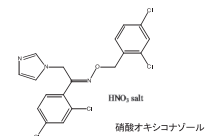
15

## 従来報告されている抗真菌性化合物

### 食品添加物



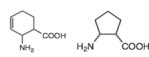
### 水虫治療薬



16

• Molecular Mode of Action of the Antifungal  $\beta$ -Amino Acid BAY 10-8888, K. Ziegelbauer *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42** (1998) 2197-2205.

• Novel Antifungal  $\beta$ -Amino Acids: Synthesis and Activity Against *Candida albicans*, J. Mittendorf *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **13** (2003) 433-436.



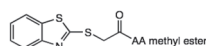
• Alicyclic  $\beta$ -amino acids in Medicinal chemistry, A. Kuhl *et al.*, *Amino Acids*, **29** (2005) 89-100.

= 1-3



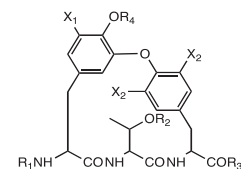
• Antimicrobial activities of amino acid derivatives of monascus pigments, C. Kim *et al.*, *FEMS Microbiol Lett.*, **264** (2006) 117-124.  
化合物の構造等についての記述はない。

• Synthesis and antifungal activity of some 2-benzothiazolythioacetyl amino acid and peptide derivatives, A. Aboelmagd *et al.*, In Proceedings of the 14th Int. Electron. Conf. Synth. Org. Chem., 1-30 November 2010; Sciforum Electronic Conferences Series, 2010, b019-1-9.



AA = Tyr, DL-Thr, Met, Ser

17



環状イソンジチロシン誘導体  
登録査定4753120 (平23.6.3) 学校法人慶応義塾

(式 (I) 中、R<sub>1</sub>は水素原子、アミド基、Boc基、Cbz基、Fmoc基、BocNH(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CO-基、BocNHCH(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CO-基、または、直鎖状あるいは分岐状のアルキル基であり、R<sub>2</sub>はベンジル基、ベンジルあるいは修飾されたベンジル基、または、直鎖状あるいは分岐状のアルキル基であり、R<sub>3</sub>は水素原子、-OR<sub>4</sub>基 (R<sub>4</sub>は直鎖状あるいは分岐状のアルキル基、または芳香環)、または、アミド基であり、R<sub>4</sub>は水素原子、または、直鎖状あるいは分岐状のアルキル基であり、X<sub>1</sub>及びX<sub>2</sub>はハロゲン原子であって、互いに同一であっても異なってもよい。) で表される化合物又はその薬理的に許容される塩は、イミペネムの活性を増強する作用、コレステリルエステルの生成を阻害する作用等を有する。

18

## 新技術の特徴・従来技術との比較

- 新技術
  - 一般的なアミノ酸のエステル誘導体であるために、簡単に多量に合成できる。
  - アミノ酸ベースであるために、安心感がある。
- 従来技術
  - 特殊なアミノ酸の価格は高い。合成に手間がかかるものもある。
  - 食品添加物や水虫治療薬として使われている薬剤は、安全性に疑問がある。

19

## 想定される用途

- 食品分野
  - 植物感染性真菌に効果を示したことから、ポストハーベストなど食品の防カビ剤としての利用が可能。
- 化粧品や医薬品
  - 動物感染性真菌(アスペルギルス系、カンジダ系)に対しても効果があれば、利用範囲は非常に広い。

20

## 実用化に向けた課題

- 現在、植物感染性真菌の抗菌剤として可能なところまで開発済みである。しかし、動物感染性真菌についてのデータ、および細胞毒性についてのデータはない。今後、それらについての実験データを得る。
- 実用化に向けて、更なる構造の最適化を図り、高活性の化合物を得る。
- 溶解性の問題については、ペプチド保護基(ペプチド合成)の技術により克服できると考えている。

21

## 企業への期待

- 抗真菌剤やペプチド合成の技術を持つ企業との共同研究を希望する。
- 抗真菌剤を開発中の企業や食品分野・化粧品への抗真菌剤の展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

22

## 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 抗真菌性を有するアミノ酸誘導体
- 出願番号 : 特願2013-202368(出願日:平成25年9月27日)  
- 【基礎出願:特願2012-216254(出願日:平成24年9月28日)】
- 出願人 : 国立大学法人 佐賀大学
- 発明者 : 上田敏久・宗 伸明・光富 勝・関 清彦

23

## お問い合わせ先

国立大学法人 佐賀大学  
産学・地域連携機構  
知財戦略コーディネーター  
田中 雄二(タナカ ユウジ)  
TEL 0952-28-8151  
FAX 0952-28-8186  
e-mail [tlo@mail.admin.saga-u.ac.jp](mailto:tlo@mail.admin.saga-u.ac.jp)

24