

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15241

研究課題名（和文）多成分連結型天然物ビルドアップライブラリー法の確立

研究課題名（英文）Multi-component linking strategy for the natural product drug discovery.

研究代表者

勝山 彬（Katsuyama, Akira）

北海道大学・薬学研究院・助教

研究者番号：20824709

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：中分子天然物を医薬品として利用するために、その構造を改変し、生物活性や代謝安定性等の薬物としての性質を向上させる必要がある。複雑な構造を有する天然物の構造修飾は多大な労力を有することから、この段階の効率化が求められている。本研究では、ペプチド系の天然物を主たるターゲットとし、天然物中に複数の化学修飾の導入が可能な多成分連結型の構造最適化手法の確立を目的に研究を行った。抗菌天然物ポリミキシンBについて、セリン-スレオニンライゲーションを用いることで、多数の誘導体を網羅的に合成するとともに、抗菌活性の改変に成功した。またこの反応により、二段階目の修飾の足がかりとなるアルデヒドの導入にも成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細菌による感染症は、現代の公衆衛生においても再び脅威となりつつあるが、どのような感染症が流行するかを事前に予測し、それに対して適切な抗菌薬を開発するのは困難である。こうした疾患に対しては、多数の性質の異なる候補化合物を迅速に提供することが重要であり、抗菌ペプチドポリミキシンを用いて抗菌スペクトルを迅速に改変できた事実は、予測の難しい感染症に対して本研究で確立した手法が機能することを示している。

研究成果の概要（英文）：As structural modification of natural products with complex structures is labour intensive, there is a need to improve the efficiency of this step. The primary objective of this study was to develop a multi-component linking strategy for structural optimization of peptide-based natural products. This method allows the introduction of multiple chemical modifications in natural products. To demonstrate the efficacy of this method, the antimicrobial natural product polymyxin B was used in this study. Using a serine-threonine ligation (STL), a number of derivatives were synthesised comprehensively and successfully modified for antimicrobial activity.

研究分野：創薬化学

キーワード：創薬化学 ペプチド 構造最適化 ペプチドスクランニング

1. 研究開始当初の背景

これまでの低分子医薬品を中心とした創薬研究により、多くの優れた医薬品が開発されてきた。しかし、低分子化合物だけでは攻略できない疾患も多く残されており、分子量 500 以上の中分子天然物は新たなモダリティとして注目されている。中分子天然物は、多数の官能基が三次元的に配置された独特の構造に起因して、タンパク質間相互作用や生体膜など、低分子化合物では制御が難しい標的分子に作用することが可能である。この優れた生物活性を保ったまま、体内動態などの医薬品としての性質を改良することで、多くの医薬品が開発されている。しかし、中分子天然物の修飾は、適切な修飾を加える必要があり、この修飾はしばしば複数箇所にあつた。一般的な全合成的手法では、入手容易な小さなフラグメント化合物に対して、様々な化学変換を行うことで分子を段階的に大きくしていき、最終的に天然物誘導体を組み上げていく。しかし、この方法では複雑な構造に起因して合成工程数が増加し、信頼性の高い変換反応であっても、誘導体ごとに反応条件の徹底的な検討が必要となることから、修飾を施した多数の誘導体合成が困難となっている。したがって、天然物創薬においては、逐次的な合成から脱却し、効率的な誘導体合成を実現する方法が求められている。

2. 研究の目的

申請者は抗菌天然物であるコリスチンのライブラリー構築に取り組み、その過程で「天然物ビルドアップライブラリー戦略」を考案し、天然物誘導体を迅速に合成する方法を確立してきた。この方法では、天然物を「コア」と「アクセサリー」に分割し、コアに対して 100 種類以上のアクセサリーライブラリーを連結することで、天然物誘導体ライブラリーを迅速に構築することができる。コアとアクセサリーの連結には 2 種類の化学反応を利用してきた。すなわち、サリチルアルデヒドエステルを用いたアミノアルコール選択的なアシル化反応であるセリン-スレオニンライゲーション (STL) とアルデヒドとヒドラジンの反応であるヒドラゾン形成反応である。この研究の目的は、精製・構造決定を省略しつつ、誘導体のケミカルスペースを増大させる手法を確立するための新たな方法論として、上記天然物ビルドアップライブラリー戦略を多成分連結型の方法へと拡張することである。このような多成分連結型ビルドアップライブラリー法を確立するとともに、この手法を抗菌天然物へと応用することで、細菌感染症に対するリード化合物の獲得も目指す。

3. 研究の方法

上記研究目的の達成を目指し、本研究では以下の方法で研究を実施した。

研究方法 1. ヒドラゾン形成反応と STL を利用する多成分連結手法の確立：

天然物コアに対して、ヒドラゾン形成反応とアミノアルコール選択的なアシル化反応である、セリン-スレオニンライゲーション (STL) を用いてアクセサリーを連続的に導入する方法論を確立する。これまで研究対象としてきたポリミキシン類に対して、STL を用いてアルデヒドを有するフラグメントを導入する。その後、このアルデヒドを足がかりとしたヒドラゾン形成反応を行うことで、天然物コアに対して 2 つのフラグメントの導入を行う。

研究方法 2. 第二世代 STL の開発：

ヒドラゾン形成反応の可逆性を克服するため、第二世代 STL を開発する。STL の想定反応機構に基づく量子化学計算により、STL と同様に、安定なアミド結合を形成する第二世代のフラグメント連結手法を確立する。

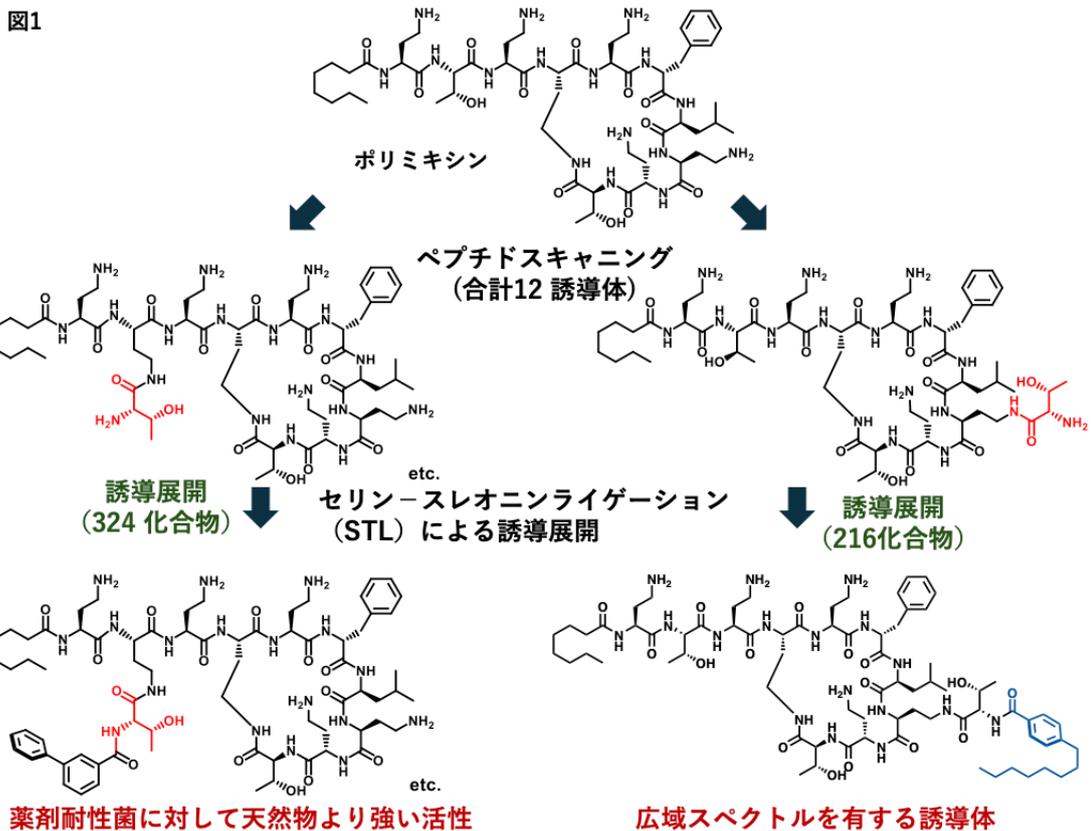
研究方法 3. 天然物ライブラリーの拡張：

コリスチン以外の天然物にも同様の手法を適用し、天然物ライブラリーの構築を目指

す。各天然物コアに対して上記の手法を用いたライブラリー化を実施することで、抗菌活性や抗がん活性に優れた誘導体の獲得を目指す。

4. 研究成果

抗菌天然物ポリミキシンを研究対象として、多成分連結について検討を行った。アセタール保護されたアルデヒドフラグメントを、STL を用いてポリミキシンコアに対して連結した後、酸性条件でアセタールを加水分解することで、多成分連結の足がかりとなるアルデヒドを有する誘導体を獲得することができた。また、上記検討を行う中で、STL を用いたペプチドの構造最適化手法を見出すことができた。すなわち、側鎖に1,2-アミノアルコールを有するスレオニルジアミノブタン酸(TDA)を用いたペプチドスキニングを行うことで、まずはその後の修飾可能性部位を探索する。その後、この活性を保持した誘導体に対して、STL を用いた誘導体合成を実施することで、一段回目のスキニングで用いたスキニング誘導体をそのまま構造展開できることを見出した。構造展開では約 50 種類のサリチルアルデヒドエステルを用いることで、12 種類のスキニング誘導体から合計約 600 種類の誘導体を nmol スケールで合成することができた。ペプチドスキニングとその後の誘導体展開を経て、親化合物であるポリミキシンに対して耐性を示す耐性菌に対しても有効な誘導体を獲得することができただけでなく、抗菌スペクトルの改変にも成功し、狭域・広域スペクトルを示す新規誘導体を複数獲得



するに至った (図 1)。

また、第二世代 STL については、窒素原子を脱離基として用いた第二世代反応の開発に成功した。この反応の基質一般性を検討することで、本反応がアルキル基、アリール基を有するアシル基の導入に利用できることを明らかとした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Komatani Yuya, Momosaki Kyoka, Katsuyama Akira, Yamamoto Kazuki, Kaguchi Rintaro, Ichikawa Satoshi	4. 巻 25
2. 論文標題 Solid-Phase Total Synthesis of Sandramycin and Its Analogues	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 543 ~ 548
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.2c04327	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kaguchi Rintaro, Katsuyama Akira, Sato Toyotaka, Takahashi Satoshi, Horiuchi Motohiro, Yokota Shin-ichi, Ichikawa Satoshi	4. 巻 145
2. 論文標題 Discovery of Biologically Optimized Polymyxin Derivatives Facilitated by Peptide Scanning and In Situ Screening Chemistry	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 3665 ~ 3681
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.2c12971	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 駒谷優弥、百崎恭佳、勝山彬、山本一貴、市川聡
2. 発表標題 人工核酸抗体の開発を指向したサンドラマイシン誘導体の合成研究
3. 学会等名 第34回 万有札幌シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 家口凜太郎、勝山彬、佐藤豊孝、堀内基広、横田伸一、市川聡
2. 発表標題 スレオニルジアミノブタン酸スキャンニングを用いたポリミキシン耐性菌に有効な創薬リードの創製
3. 学会等名 第64回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 家口凜太郎、勝山彬、喜多俊介、前仲勝実、市川聡
2. 発表標題 ビルドアップ法に基づくコリスチン誘導体の多数供給と評価
3. 学会等名 日本薬学会北海道支部第149回例会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------