

令和元年9月18日現在

機関番号：34414

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2018

課題番号：26460162

研究課題名(和文)天然由来抗生物質をシード化合物とした新規抗生物質の創薬研究

研究課題名(英文) Synthesis and Antibacterial Activity of new compounds derived from natural antibiotics

研究代表者

広川 美視 (HIROKAWA, YOSHIMI)

大阪大谷大学・薬学部・准教授

研究者番号：40454582

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：抗菌剤の適正使用を啓発する取り組みが盛んに行われているが、耐性菌の問題は解決することなく、高度に耐性化した多剤耐性菌の出現による生命の危険はさらに高まっている。そこで、既存の抗菌薬とは違った構造を持つ天然由来抗生物質をシード化合物として、感受性菌だけでなく多剤耐性菌にも有効かつ交差耐性のない新規抗菌剤の創薬研究に着手した結果、強い抗菌力を持ち、ヒトと代謝系が類似していると言われているカイコを使った評価系において既存の抗菌薬に匹敵する良好な体内動態を示す化合物を複数見出すことに成功した。さらに、シード化合物の脂溶性を克服し、注射剤としての開発に必要な水溶性を持たせることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

半世紀以上も前に新規抗生物質として発見されたが、医薬品として開発されていない天然物を医薬品として開発可能な化合物へと誘導することを目的に研究を進めた結果、その特徴的な構造から予想される高い脂溶性を克服し、注射剤として必要な水溶性を持たせること、かつ多剤耐性菌に対して感受性菌と同等の強い抗菌活性を示す化合物を合成することに成功し、新規抗菌薬としての開発の可能性を示すことができた。この新規化合物は既存の抗菌剤とは構造的に大きく異なることから作用機序の差別化を可能とし、高い水溶性を利用した注射剤は、抗菌薬の選択肢数を増やし治療の幅を広げ、適正使用という意味において十分社会に貢献できる。

研究成果の概要(英文)：Enlightenment activity for the proper use of antimicrobial agents have been worked, but the problem of resistant bacteria has not been solved, and the risk of life has increased due to the emergence of multi-drug resistant pathogens. Therefore, by deriving from a natural product which has good antibacterial activity and has a unique structure, we have focused to discover and develop novel classes of antibiotics, particularly agents with new mechanisms of action and no cross-resistance to marketed antibacterial agents.

As the result, we have succeeded in finding several compounds that have strong antibacterial activity against Gram-positive pathogens not only susceptible bacteria but also multi-drug resistant bacteria, and show good pharmacokinetics comparable to marketed antibacterial agents in evaluation systems using silkworms. Furthermore, we have succeeded in overcoming the hydrophobic nature of the natural product and in synthesizing of the water-soluble derivatives.

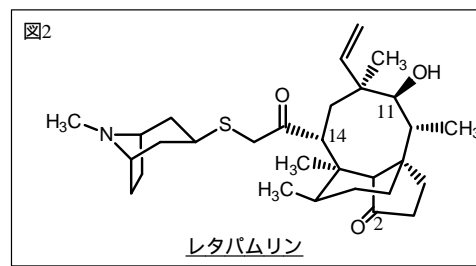
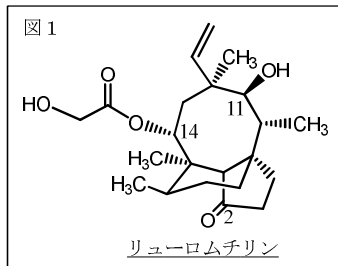
研究分野：創薬化学、医薬分子設計、有機化学

キーワード：多剤耐性菌 抗生物質 リューロムチリン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

新しい抗菌剤を開発するための1つのアプローチとして、過去に発見されたにもかかわらず医薬品としてまだ開発されていない化合物を見直そうという動きがある中、多くの研究者が興味を持った化合物が、1951年に発見された非常に興味深い5-6-8員環縮合構造を持つ三環系ジテルペノイド・リユーロムチリン(図1)である。リユーロムチリンは、グラム陽性菌やマイコプラズマに対して *in vitro* において中程度の抗菌力を持つが、*in vivo* 活性が弱い化合物であった。またその作用機序は、原核細胞リボソームとの相互作用を介して細菌の蛋白合成を阻害するが真核生物のタンパク質合成には作用しないという特徴を持っていた。現在まで多くの製薬会社により研究されてきているが、上市に至った化合物は、グラクソ・スミスラインから2007年に発売された皮膚感染症治療用塗布剤レタパムリン(図2)のみである。その他の開発中の化合物においても、ターゲットは主に塗布剤であり、経口剤や注射剤としての開発にはまだ成功していない。



2. 研究の目的

抗菌剤の適正使用を啓発する取り組みが盛んに行われているが、耐性菌の問題は解決することなく、高度に耐性化した多剤耐性菌の出現による生命の危険はさらに高まっている。近年、新規抗菌剤の上市がほとんどないにもかかわらず、新たな耐性菌やウイルス等の出現による死亡例が報告されるようになってきている。このような状況下、新規作用機序を持つ新しい抗菌剤や抗ウイルス剤の開発が望まれているのは、間違いのないことである。そこで、感受性菌に対してのみならず、問題となっている多剤耐性菌に対しても強い抗菌力を持ち、既存の抗菌薬と交差耐性がなく、かつ体内動態に優れた新規抗菌薬を創製できれば、効果的な治療を実現し、生命を守ることを可能にすると考え、既存の抗菌薬とは違った構造を持つ新規抗菌剤の創薬研究に着手した。また、創薬研究において、このリード化合物の高い脂溶性を改善し水溶性化合物に変換することも重要であり、この物性の改善は治療の幅を広げることにつながると考えた。

3. 研究の方法

(1) **新規化合物の合成**：非常に興味深い5-6-8員環縮合構造を持つリユーロムチリンに、各種置換基を導入し高い抗菌力と優れた治療効果、及び良好な水溶性を持たせた化合物の合成を検討し、26個の新規化合物を合成した。(図3)

(図3)

(2) **In vitro 抗菌活性**：黄色ブドウ球菌感受性菌 (*S. aureus* FDA209P)、黄色ブドウ球菌高度耐性菌 (*S. aureus* KMP9) 及び大腸菌 (*E. Coli* NIHJ JC-2) に対する抗菌活性評価として微量液体希釈法により最小発育阻止濃度 (MIC: $\mu\text{g/mL}$) を測定した(図4)。評価する各試料は生理食塩水またはミリQ水で溶解した。比較対象医薬品は、ミノサイクリン、エリスロマイシンである。

(3) **In vivo 抗菌活性**：カイコを用いた黄色ブドウ球菌感受性菌(臨床分離菌 MSSA1株)に対する抗菌活性の評価を外部機関(株式会社ゲノム創薬研究所)に依頼した。まず、この菌株に対するMICを測定後、感染カイコに試料をiv投与した際の治療効果(ED_{50})を調べた。また、 $\text{ED}_{50}/\text{MIC}$ 比を求めることにより、化合物の体内動態を評価した。

4. 研究成果

合成した新規化合物は、すべて比較的水溶性の高い化合物であり、目的の一つであるリード化合物の脂溶性を改善し水溶性の高い化合物を合成するという目的を達成している。得られた新規化合物の抗菌活性評価は、黄色ブドウ球菌感受性菌 *S. aureus* FDA209P、多剤耐性菌 *S. aureus* KMP9 及び大腸菌 *E. Coli* NIHJ JC-2 を使用して各菌株の最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。その結果、多剤耐性菌に対しても感受性菌と同等の抗菌作用を示した (Table 1)。比較対象医薬品であるミノサイクリン、エリスロマイシンの感受性菌 *S. aureus* FDA209P に対する MIC はそれぞれ 0.063~0.125 $\mu\text{g/mL}$ 、0.125~0.5 $\mu\text{g/mL}$ であり、多剤耐性菌 *S. aureus* KMP9 に対する MIC はそれぞれ 2~8、> 128 $\mu\text{g/mL}$ 、グラム陰性菌の *E. Coli* NIHJ JC-2 に対する MIC はそれぞれ 0.25~2 $\mu\text{g/mL}$ 、64~128 $\mu\text{g/mL}$ である。これらのことから、感受性菌だけでなく多

剤耐性菌に対しても同等に強い抗菌活性を持つ新規化合物の合成に成功した。また、in vivo 抗菌活性評価としてカイコの評価系を使用し、iv 投与による治癒効果 (ED₅₀) を評価した。その結果をもとに ED₅₀(mg/mL) と ED₅₀/MIC の相関図を図 4 に示す。浜本らの文献値からカイコの評価系による既存の抗菌薬の ED₅₀(mg/mL) 及び ED₅₀/MIC 値はそれぞれ 10 以下であることから、医薬品として開発するための条件として ED₅₀(mg/mL) 及び ED₅₀/MIC 値が 10 以下の化合物を選択する必要がある。図 4 に示すようにこの条件に合う化合物を複数見出すことができた。今後、この化合物の他の菌株への抗菌活性や薬物動態等さらに研究を進めることにより新規医薬品としての開発の可能性について検討する。さらに、感受性菌だけでなく多剤耐性菌にも同等に強い抗菌活性を持ち、さらに体内動態に優れた新規化合物の合成研究を行う。

Table 1 合成化合物の抗菌活性一覧

Compounds	S. aureus FDA209P MIC (µg/mL)	S. aureus KMP9 MIC (µg/mL)	E. coli NIHJ JC-2 MIC (µg/mL)	S. aureus MSSA1		ED ₅₀ /MIC ratio
				MIC (µg/mL)	ED ₅₀ (mg/kg, iv)	
a						13
b						3.6
c						29
d						44
e						14
f						6.9
g						8.8
h						33
i						82
j						2.2
k						4.8
l						9.7
m						16
n						16
o						160
p						210
q						210
r						15
s						13
t						5.1
u						1.2
v						15
w						17
x						7.5
y						2.8
z						2.4
Minocycline	0.063~0.125	2~8	2~0.25	0.4*	3.9*	9.8*
Erythromycin	0.125~0.5	> 128	64~128			

* ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, 48, 774-779. H. Hamamoto et al.

(図 4)

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。