

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03345

研究課題名(和文)天然物創薬を加速するリード創製プラットフォーム構築研究

研究課題名(英文) Development of lead discovery platform accelerating medicinal chemistry based on natural products

研究代表者

市川 聡 (Ichikawa, Satoshi)

北海道大学・薬学研究院・教授

研究者番号：60333621

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：天然物の母骨格を「コア」構造、種々のアシルヒドラジン「アクセサリー」とし、両フラグメントの連結を96穴プレート上で行い、各ウェル内でヒドラゾン形成反応の進行と収率をLC-MSにて確認した。両フラグメントによる生物活性評価条件でのヒドラゾン形成反応条件、同条件下におけるヒドラゾン体の安定性についても検討した。本法を用いて、複数の天然物の誘導体ライブラリーを一挙にパラレル合成した。その結果、薬剤耐性菌に対して極めて有効な誘導体など、もとの天然物の活性を凌駕する誘導体の同定を複数同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

天然物そのものが医薬品となるケースはわずか数%にすぎず、薬の「原石」を創薬リードとするためには、生物活性の増強・標的に対する選択性の向上・代謝安定性の付与・体内動態の向上・毒性の低減などの様々な性質を改善する必要がある。そのためには、天然物が有する化学構造の改変が必須であり、多彩な天然物誘導体群(ライブラリー)を用いた構造活性相関の検討が必要である。変研究では、天然物ライブラリーの迅速合成法の開発と、それを用いた抗がん剤、抗菌剤リードの開発を行うもので、本研究を通して得られた生物活性化合物は、人類の健康福祉の維持・向上へ大きく貢献する。

研究成果の概要(英文)：The major skeleton of a natural product was used as the "core" structure and various acylhydrazines as "accessories." Both fragments were reacted on a 96-well plate, and the progress and yield of the hydrazone formation reaction were confirmed in each well by LC-MS. The reaction conditions for hydrazone formation and the stability of the hydrazones under the same conditions were also examined under the conditions of biological activity evaluation using both fragments. Using this method, a library of derivatives of several natural products was synthesized in parallel. As a result, we identified several derivatives that surpassed the activity of the original natural products, including a derivative that is extremely effective against drug-resistant bacteria.

Translated with www.DeepL.com/Translator (free version)

研究分野：創薬化学

キーワード：抗がん剤 抗菌剤 天然物

1. 研究開始当初の背景

医薬品開発に於いては、疾患ターゲットに作用する優れた化合物の取得がその成否を分けることから、リード化合物の選択はきわめて重要である。様々な生物活性を指標に発見されてきた天然物は、人智を超えた活性・構造を有する重要な創薬リード分子である。2019年までの約40年間にFDAに承認された医薬品のうち、半数近くが天然物に関連しており (Newman, *J. Nat. Prod.* 2020, 83, 770) 医薬品の「原石」と言ってよい。一方で、天然物そのものが医薬品となるケースはわずか数%にすぎないのも事実であり、「原石」を創薬リードとするためには、生物活性の増強・標的に対する選択性の向上・代謝安定性の付与・体内動態の向上・毒性の低減などの様々な性質を改善する必要がある。そのためには、天然物が有する化学構造の改変が必須であり、多彩な天然物誘導体群 (ライブラリー) を用いた構造活性相関の検討が必要である。遺伝子改変生産菌を用いた生合成的手法による天然物誘導体の供給に比べて、有機合成学的法による供給は、より柔軟かつ広範な分子設計を可能とする。しかし、低分子化合物と比較すると、複雑な化学構造を有する天然物誘導体を合成するためには、合成にかかる工程数とそれに付随する単離・精製や構造決定過程が煩雑で人的・時間的・金銭的コストがかかる。そのため、天然物誘導体ライブラリーの有用性は十分認識されているにもかかわらず、天然物誘導体ライブラリーのその網羅的・包括的な供給は敬遠されていたのが現状である。必要な天然物の誘導体を「いかにして迅速かつ網羅的に合成するか?」は、天然物創薬における至上命題である。

2. 研究の目的

天然物を基盤とする創薬研究における、必要な天然物の誘導体を「いかにして迅速かつ網羅的に合成するか?」という至上命題に対して、パラレルフラグメント連結戦略による迅速かつ網羅的なライブラリー供給と生物活性評価からなる新たな天然物創薬プラットフォームの構築を行う (図1)。

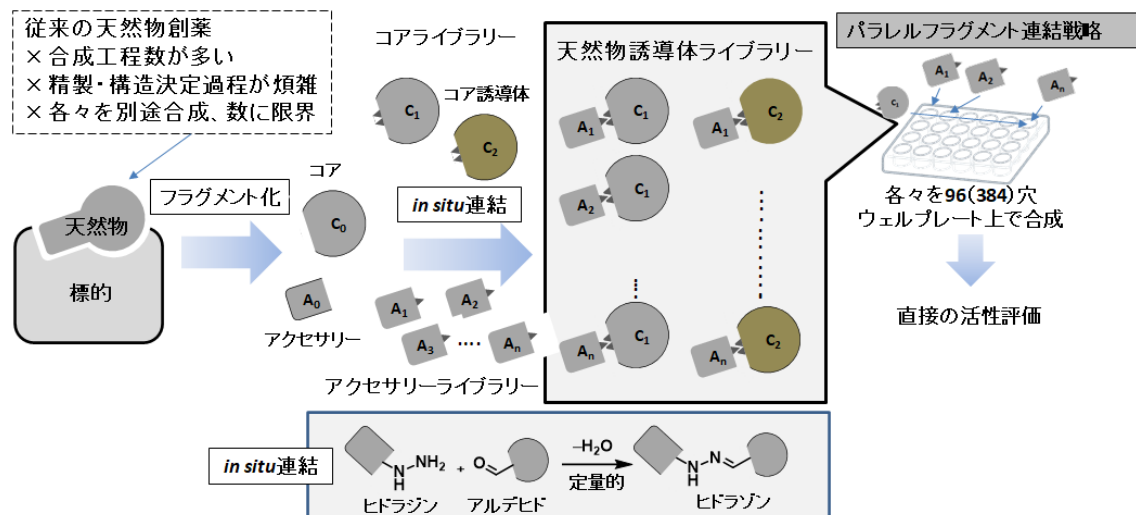


図1

3. 研究の方法

まず天然物の化学構造を「コア」と、それ以外の「アクセサリ」の2つのフラグメントに分割する。これらを、迅速かつ定量的に進行し、かつ生物活性評価に影響を及ぼさない反応 (ヒドラゾン形成反応) にて連結する事を基本戦略とする。このような連結法を選択する事により、合成工程数の増加原因となる直線的合成経路の回避、化合物の合成・単離・構造決定という有機合成化学におけるボトルネックを解消する。「コア」と「アクセサリ」の各ライブラリーをプレート上で混合する事で、天然物誘導体ライブラリーを一挙に平行合成する。直後に同プレートを各種生物活性評価に供する事で、迅速な生物活性評価を行う。本手法は、生物活性評価に最低限必要な量の「コア」と「アクセサリライブラリー」のみで良く、合成するサンプル量が一般的な天然物誘導体合成の際と比べて圧倒的に微量で良い。

4. 研究成果

まず、コリスチン・ポリミキシンを対象として、環状ペプチド部を「コア」、アシルペプチド鎖を「アクセサリー」として、それぞれを固相合成した。次に、各フラグメントの連結を 96 穴プレート上で行い、コリスチン・ポリミキシン誘導体の小規模ライブラリーをパラレル合成した。この際に、最低限必要な量の「コア」と「アクセサリー」の検討や、各ウェル内でヒドラゾン形成反応の進行と収率を LC-MS にて確認した。両フラグメントによる生物活性評価条件でのヒドラゾン形成反応条件、同条件下におけるヒドラゾン体の安定性についても検討した。その結果、SPR や ITC 等の測定条件下では、化合物は純分安定に存在する事を確認した。一方で、細胞や細菌の培養液中では、24 時間で 30 ~ 40% 程度の化合物の分解が起きている事もわかった。ヒドラゾン形成反応条件とその安定性に関する知見を得たため、コリスチン・ポリミキシン誘導体の大規模ライブラリー (600 個以上) を一挙にパラレル合成した。その結果、コリスチン耐性大腸菌に対して極めて有効な誘導体や LPS に強く結合する誘導体の同定に成功した。

次に、ヌクレオシド系抗菌天然物群のライブラリー構築を行った。ツニカマイシン・ムライマイシン誘導体の規模ライブラリー (各 184 個づつ) を一挙にパラレル合成した。その結果、親化合物を上回る抗菌活性を示す誘導体を複数同定する事ができた。ツニカマイシン・ムライマイシンは、グラム陽性菌にしか抗菌活性を示さないが、緑膿菌を含むグラム陰性菌にも抗菌活性を示す誘導体も同定する事が出来た。更に、ムレイドマイシンライブラリーの合成も行い、MraY 阻害活性を評価した。その結果、コア構造よりも 10 倍以上 MraY 阻害活性が高い誘導体を複数同定する事ができた。

一方で、立体障害が大きいケトン等はヒドラジンと反応せず、ダプトマイシン等、ライブラリー化できない天然物もある事が分かった。

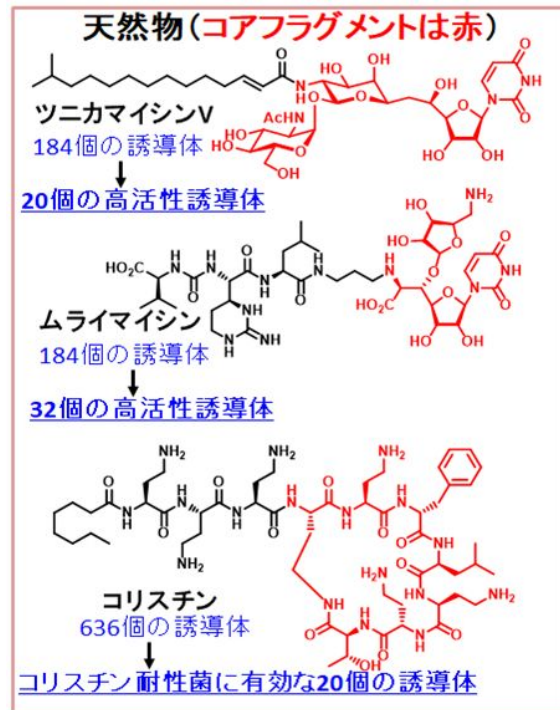


図 2

天然物ライブラリーの拡張を目的として、強力な抗腫瘍活性を有するエチノマイシン、ナノシスチン、抗菌活性を有するプラスバシン A3、抗骨粗しょう症活性を有するアカウライドの全合成を達成した。また、抗菌活性を有するグルミレシンの合成研究も行った。

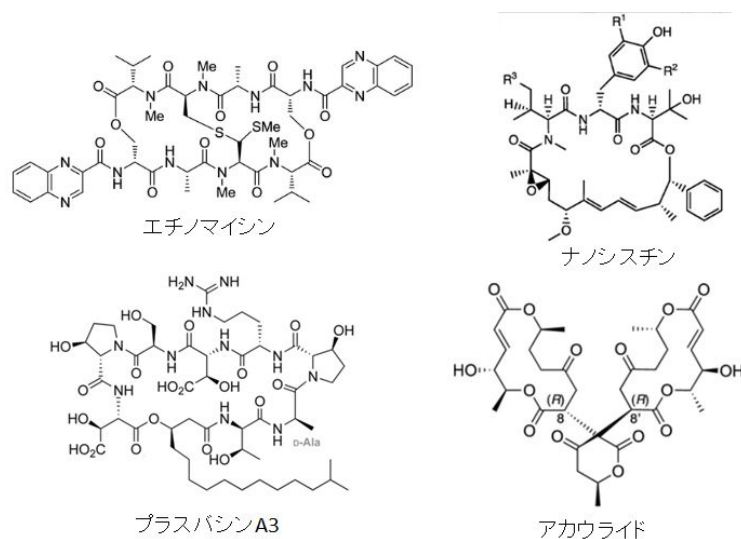


図 3

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yuma Terasawa, Chisato Sataka, Toyotaka Sato, Kazuki Yamamoto, Yukari Fukushima, Chie Nakajima, Yasuhiko Suzuki, Akira Katsuyama, Takanori Matsumaru, Fumika Yakushiji, Shin-ichi Yokota, and Satoshi Ichikawa	4. 巻 63
2. 論文標題 Elucidating the Structural Requirement of Uridylpeptide Antibiotics for Antibacterial Activity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Med. Chem.	6. 最初と最後の頁 9803 - 9827
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jmedchem.0c00973	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 Jun Hirabayashi, Fumika Yakushiji, Akira Katsuyama and Satoshi Ichikawa	4. 巻 22
2. 論文標題 Total Synthesis of Acaulide and Acaulone A	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Org, Lett	6. 最初と最後の頁 5545-5549
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.0c01907	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 Keita Kojima, Fumika Yakushiji, Akira Katsuyama, and Satoshi Ichikawa, Total Synthesis of Echinomycin and Its Analogues	4. 巻 22
2. 論文標題 Total Synthesis of Echinomycin and Its Analogues	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Org. Lett	6. 最初と最後の頁 4217-4221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.0c01268	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 Shun Kitahata, Akira Katsuyama, Satoshi Ichikawa	4. 巻 22
2. 論文標題 A Synthesis Strategy for the Production of a Macrolactone of Gulmirecin A via a Ni(0)-Mediated Reductive Cyclization Reaction	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Org. Lett	6. 最初と最後の頁 2697-2701
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.0c00665	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 Ellene H. Mashalidis, Benjamin Kaeser, Yuma Terasawa, Akira Katsuyama, Do-Yeon Kwon, Kiyoun Lee, Jiyong Hong, Satoshi Ichikawa, Seok-Yong Lee	4. 巻 10
2. 論文標題 Chemical logic of MraY inhibition by antibacterial nucleoside natural products	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nat. Commun.	6. 最初と最後の頁 2917
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-10957-9	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 該当する

1. 著者名 Kazuki Yamamoto; Akira Katsuyama and Satoshi Ichikawa	4. 巻 27
2. 論文標題 Structural requirement of tunicamycin V for MraY inhibition	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioorg. Med. Chem.	6. 最初と最後の頁 1714-1719
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2019.02.035	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 Kazuki Yamamoto, Toyotaka Sato, Yuta Hikiji, Akira Katsuyama, Takanori Matsumaru, Fumika Yakushiji, Shin-ichi Yokota, and Satoshi Ichikawa	4. 巻 39
2. 論文標題 Synthesis and biological evaluation of MraY selective analogue of tunicamycins	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids	6. 最初と最後の頁 349-364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15257770.2019.1649696	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 Akira Katsuyama, Fumika Yakushiji, Satoshi Ichikawa	4. 巻 73
2. 論文標題 Solid-phase Synthesis of Fluorescent Analogues of Park's Nucleotide, Lipid I and Lipid II	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Tetrahedron Lett.	6. 最初と最後の頁 153101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2021.153101	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 Hiroyuki Miyachi, Kayoko Kanamitsu, Mayumi Ishii, , Hirotatsu Kojima, Satoshi Ichikawa, Toshiaki Sunazuka, Katsumi Maenaka	4. 巻 37
2. 論文標題 Structure, solubility, and permeability relationships in a diverse middle molecule library	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioorg. Med. Chem. Lett.	6. 最初と最後の頁 127847
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2021.127847	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 Kazuki Takashina, Akira Katsuyama, Rintaro Kaguchi, Kazuki Yamamoto, Toyotaka Sato, Satoshi Takahashi, Motohiro Horiuchi, Shin-ichi Yokota, Satoshi Ichikawa	4. 巻 24
2. 論文標題 Solid-Phase Total Synthesis of Plusbacin A 3	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Org. Lett.	6. 最初と最後の頁 2253-2257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.2c00667	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 Kazuhiro, Okamoto; Aoi, Ishikawa; Ryotaro, Okawa; Kazuki, Yamamoto; Toyotaka, Sato; Shinichi, Yokota; Kazuhiro, Chiba; Sat	4. 巻 55
2. 論文標題 Design, synthesis and biological evaluation of simplified analogues of MraY inhibitory natural product with rigid scaffold	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioorg. Med. Chem.	6. 最初と最後の頁 116556
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2021.116556	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22件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 高科 和希, 勝山 彬, 薬師寺 文華, 市川 聡
2. 発表標題 新規抗菌薬の創製を指向した環状ペプチド系天然物の網羅的合成研究
3. 学会等名 第50回複素環化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷部美友紀, 仲谷岳志, 引地祐太, 山本一貴, 薬師寺文華, 勝山彬, 市川聡
2. 発表標題 スファエリミシン誘導体の設計と合成
3. 学会等名 第63回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大川 凌太郎, 勝山 彬, 薬師寺 文華, 市川 聡
2. 発表標題 リビド 誘導体の合成研究
3. 学会等名 第33回万有札幌シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤井 奨, 平林 淳, 薬師寺 文華, 勝山 彬, 市川 聡
2. 発表標題 Acaulone Bの全合成
3. 学会等名 日本薬学会北海道支部第148回例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 崎 恭佳, 小嶋 啓太, 薬師寺 文華, 勝山 彬, 市川 聡
2. 発表標題 エチノマイシン誘導体の構造活性相間研究
3. 学会等名 日本薬学会北海道支部第148回例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高科 和希, 勝山 彬, 薬師寺 文華, 市川 聡
2. 発表標題 新規抗菌薬の創製を指向した環状ペプチド系天然物の網羅的合成研究
3. 学会等名 第50回複素環化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷部美友紀, 仲谷岳志, 引地祐太, 山本一貴, 薬師寺文華, 勝山彬, 市川聡
2. 発表標題 スファエリミシン誘導体の設計と合成
3. 学会等名 第63回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大川 凌太郎, 勝山 彬, 薬師寺 文華, 市川 聡
2. 発表標題 リピド 誘導体の合成研究
3. 学会等名 第33回万有札幌シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤井 奨, 平林 淳, 薬師寺 文華, 勝山 彬, 市川 聡
2. 発表標題 Acaulone Bの全合成
3. 学会等名 日本薬学会北海道支部第148回例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 百崎 恭佳、小嶋 啓太、薬師寺 文華、勝山 彬、市川 聡
2. 発表標題 エチノマイシン誘導体の構造活性相間研究
3. 学会等名 日本薬学会北海道支部第148回例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 市川聡
2. 発表標題 Synthetic and Medicinal Chemistry of Uridylpeptide Natural Products
3. 学会等名 日本薬学会第 142年シンポジウム「Frontiers in Synthetic Medicinal Chemistry」(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小嶋啓太、薬師寺文華、勝山彬、市川聡
2. 発表標題 エチノマイシンの全合成と生物活性評価
3. 学会等名 第62回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 寺澤侑馬、佐高千里、佐藤豊隆、山本一貴、勝山 彬、松丸尊紀; 薬師寺文華、横田伸一、市川 聡
2. 発表標題 ウリジルペプチド系天然物の構造活性相間研究
3. 学会等名 反応と合成の進歩 2020 特別企画シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 家口 凜太郎, 勝山 彬, 佐藤 豊孝, 横田 伸一, 市川 聡
2. 発表標題 フラグメント連結戦略を用いたポリミキシン誘導体ライブラリーの簡便かつ迅速な構築
3. 学会等名 第32回万有札幌シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 北畑 舜, 勝山 彬, 市川 聡
2. 発表標題 グルミレシンAの合成研究
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 寺澤 侑馬, 佐高 千里, 佐藤 豊孝, 山本 一貴, 勝山 彬, 松丸 尊紀, 薬師寺 文華, 横田 伸一, 市川 聡
2. 発表標題 抗緑膿菌活性を有するウリジルペプチド系天然物の構造活性相関研究
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 市川 聡
2. 発表標題 生物活性天然物の全合成と創薬リード創製の架け橋
3. 学会等名 日本薬学会第 141年 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 市川 聡
2. 発表標題 創薬リード開発を目指した生物活性物質の変換研究
3. 学会等名 第30回記念万有福岡シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Satoshi Ichikawa
2. 発表標題 Lead Discovery of Anti-cancer Agents Based on Modification of Bioactive Natural Products
3. 学会等名 The 44th Molecular Biology of Japan (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮北 大輝;、内海 翔平、勝山 彬、薬師寺 文華、市川 聡
2. 発表標題 ナノシスチン Axの全合成
3. 学会等名 第61回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大川 凌太郎、勝山 彬、薬師寺 文華、市川 聡
2. 発表標題 MurJの作用機序解明を指向したリポドII誘導体の合成
3. 学会等名 第37回メディシナルケミストリーシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 市川 聡
2. 発表標題 Synthetic and Medicinal Chemistry of Uridylpeptide Natural Products
3. 学会等名 日本薬学会第 142年シンポジウム「Frontiers in Synthetic Medicinal Chemistry」(招待講演)
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
研究協力者	佐藤 豊孝 (Sato Toyotaka)		

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		
米国	Duke University		