

令和 4 年 4 月 16 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05837

研究課題名(和文) 抗生物質使用量削減と耐性菌出現リスク低減を意図した天然物由来ミサイル抗菌剤の開発

研究課題名(英文) Development of a novel antibacterial agent aiming at reducing the emergence of new drug-resistant bacteria

研究代表者

榎本 賢 (Enomoto, Masaru)

東北大学・農学研究科・准教授

研究者番号：90546342

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、黄色ブドウ球菌に特異的に吸着するペプチドと生理活性天然物(モネンシン)を連結することで薬剤耐性菌発生リスクの低い新規抗菌剤を開発することを目指した。これまでのところ、モネンシンそのものより8倍強力な抗菌活性を持つ誘導体の作製に成功している。一方でペプチド側については、共同研究者との探索により黄色ブドウ球菌に対して高い吸着能を持つペプチド配列を見出した。これらを連結することで高特異的な抗菌剤の創製が可能になると考えている。また、本コンセプトへの応用を念頭に入れていくつかの天然物の合成研究も実施し、クテドノケトンやロッシノンA等の天然物の全合成に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬剤耐性菌発生の主要因として抗生物質の過剰使用が挙げられる。抗生物質の使用対象でもっとも多いのはヒトではなく家畜であり、その用途は治療目的のみにとどまらず、健康な家畜の増体を目的とした飼料添加にまで及ぶ。これにより、畜産現場では抗生物質が過剰に使用され、薬剤耐性菌発生の温床になっている。飼料添加剤としてもっとも汎用される抗生物質の一つがmonensinである。このものを特定の病原菌に特異的に輸送することができれば、他の菌に対する選択圧を下げるができるので、薬剤耐性菌発生リスクの低減が期待できる。本研究成果が薬剤耐性菌出現リスクの低い家畜用新規抗菌剤の開発の一助となることを期待したい。

研究成果の概要(英文)：This research aimed to develop new antimicrobial agents with low risk of drug resistance by linking a peptide specific for *Staphylococcus aureus* with a biologically active natural product (monensin). So far, we have succeeded in synthesizing its derivative that is 8 times more potent in antibacterial activity than monensin itself. On the peptide side, through a search with a collaborator, we have found a peptide sequence with high adsorption ability against *S. aureus*. We believe that the coupling of the peptide with the monensin derivative will enable the creation of specific antimicrobial agents for *S. aureus*. In addition, with the application of this concept in mind, we have also conducted synthetic studies of several natural products and succeeded in the total synthesis of natural products such as ktedonoketone and rossonones.

研究分野：有機合成化学

キーワード：ドラッグデリバリー monensin *S. aureus*

1. 研究開始当初の背景

薬剤(多剤)耐性菌への対処は人類にとって喫緊の課題となっている。薬剤耐性菌出現の原因が抗生物質の過剰使用であることはよく知られている一方で、人の医療目的よりも家畜生産のために使用される抗生物質の方が多く、家畜生産現場が薬剤耐性菌発生の温床になっていることは広く知られていないようである。実際に、家畜飼料に与えた抗生物質によって、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)が発生し、人に感染する事例が報告されている(*Appl. Environ. Microbiol.* 2014, 80, 7275)。日本では全抗生物質量の50%以上が家畜生産の現場において使用されている(図1)。家畜に対しては、家畜が病気でも抗生物質が日常的に飼料に添加されている。1946年に抗生物質添加により家畜の成長が促進されることが発見されて以来、この方法は近代の集約的家畜生産において欠かせない技術となっているが、抗生物質過剰使用の原因にもなっている。実際、2012年に飼料添加目的で使用された抗生物質は175トンで、これは人医療目的で使用された量(517トン)の1/3にまで達する。他の用途と比較して飼料添加目的での使用の優先順位は高くはないと考えられ、この目的で使用される抗生物質量を減らすことができれば、抗生物質使用量の削減に貢献できる。ここで家畜飼料に添加される抗生物質の内訳に着目すると、59%を占めるのがポリエーテル系抗生物質である(図2)。申請者はポリエーテル系抗生物質の標的部位と作用機構に着目し、「ミサイル化」により、薬剤耐性菌出現リスクの低減と抗菌活性の向上が実現できると考えた。

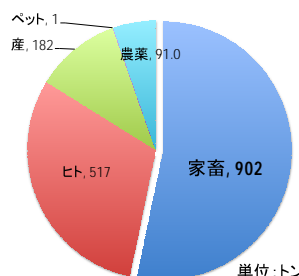


図1 2012年の日本における抗菌薬の使用用途(城西国際大学 深澤ら「研究ノート」)。

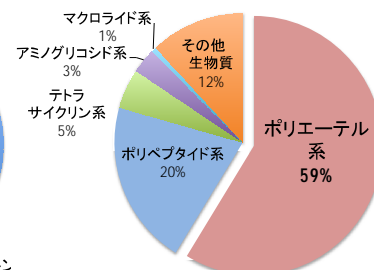


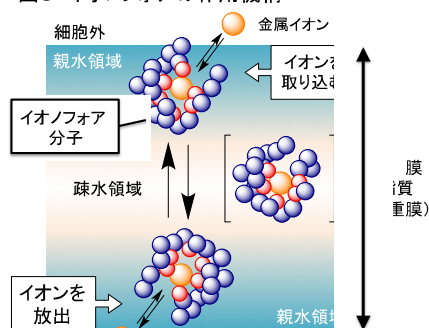
図2 2002年の日本における抗生物質飼料添加物の製造量(小嶋 三夫, 飼料検査, 2003, 478, 1)。

ドウ球菌(MRSA)が発生し、人に感染する事例が報告されている(*Appl. Environ. Microbiol.* 2014, 80, 7275)。日本では全抗生物質量の50%以上が家畜生産の現場において使用されている(図1)。家畜に対しては、家畜が病気でも抗生物質が日常的に飼料に添加されている。1946年に抗生物質添加により家畜の成長が促進されることが発見されて以来、この方法は近代の集約的家畜生産において欠かせない技術となっているが、抗生物質過剰使用の原因にもなっている。実際、2012年に飼料添加目的で使用された抗生物質は175トンで、これは人医療目的で使用された量(517トン)の1/3にまで達する。他の用途と比較して飼料添加目的での使用の優先順位は高くはないと考えられ、この目的で使用される抗生物質量を減らすことができれば、抗生物質使用量の削減に貢献できる。ここで家畜飼料に添加される抗生物質の内訳に着目すると、59%を占めるのがポリエーテル系抗生物質である(図2)。申請者はポリエーテル系抗生物質の標的部位と作用機構に着目し、「ミサイル化」により、薬剤耐性菌出現リスクの低減と抗菌活性の向上が実現できると考えた。

2. 研究の目的

ほとんどのポリエーテル系抗生物質は、細胞膜においてイオノフォアとして作用することで抗菌活性を示す(図3)。標的部位が菌体表面(細胞膜)であることに着目すると、ミサイル療法が効果的に適用できると予想した。ミサイル療法は、標的に選択的に薬剤を到達させる手法として注目されている。例えば、癌治療においては、癌細胞に特異的に結合する認識部位(抗体等)と抗癌剤を連結し、正常細胞と区別して選択性を高めることで、抗癌剤使用量と副作用の低減化を実現している。このミサイル療法のコンセプトを利用すれば、抗生物質を標的となる菌体(細胞)表面に選択的に輸送して、その付近に濃縮できる。効果的な方法であるが、認識部位が結合する場所が菌(細胞)表面であるため、菌体内で作用する抗生物質の場合、取り込みが効果発現の障害になり得る。これを考慮すると、薬剤の作用部位は菌体内よりも表面である方が有利である。細胞膜に作用するポリエーテル系抗生物質は、このコンセプトの適用が可能と考察できるので、標的を特異的に認識するペプチドをポリエーテル系抗生物質に連結して化合物を「ミサイル化」する。これにより特異性が向上した新規抗菌剤の創出を目的として研究に着手した。

図3 イオノフォアの作用機構

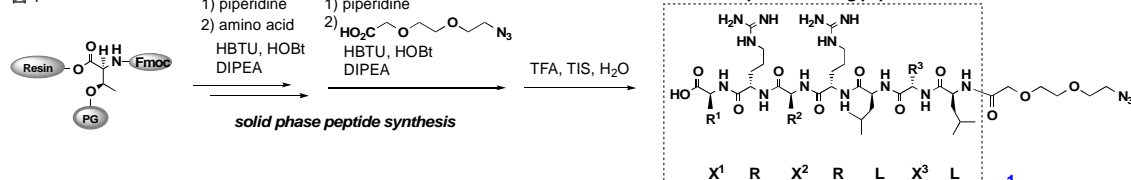


3. 研究の方法

(1) 家畜感染症起因菌に特異的なペプチドの取得とその化学合成

家畜感染症起因菌として最も一般的な黄色ブドウ球菌を標的として、共同研究者・米山がファージディスプレイ法により7残基のペプチド($X^1RX^2RLX^3L$; 論文未公表のため一部のアミノ酸の残基をXとした)を見出した。この配列をペプチド固相合成法により化学合成し、N末端側に抗菌抗生物質との連結の足掛かりとなるアジド基を有するリンカーを縮合したペプチドセグメント1を合成した(図4)。

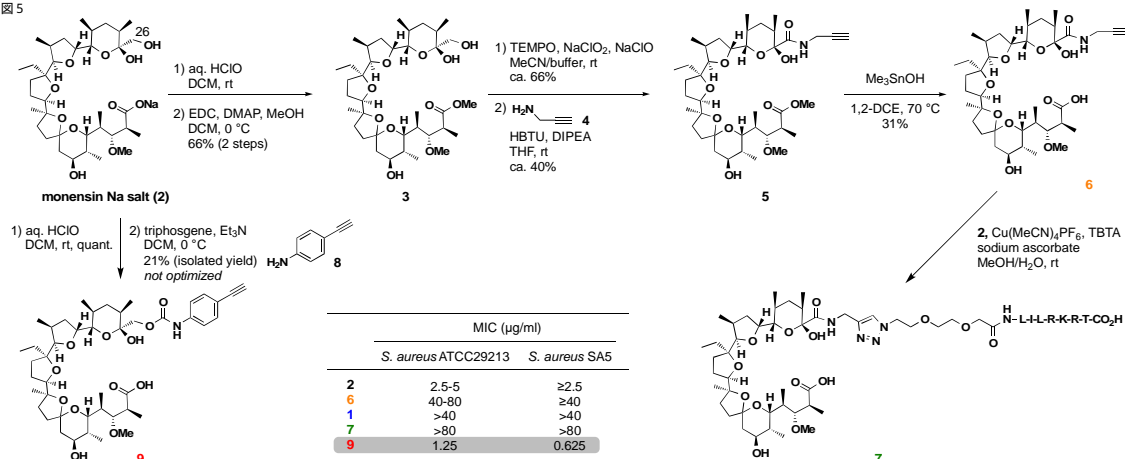
図4



(2) イオノフォア天然物の修飾

ペプチドと連結する抗生物質は、ポリエーテル系抗生物質の中で家畜に対する使用量が最も多いモネンシン (Mon) を使用した。Mon は Na⁺イオン等を分子に内包できるイオノフォア天然物である。ペプチドを連結するにあたり、抗菌活性を損なわない部位で Mon を修飾する必要がある。そこで既知の構造活性相関に基づき (*J. Antibiot.* **1983**, 36, 1195), Mon26 位でペプチド部位と連結することを計画した。種々検討の結果、目的物を図 5 に示した経路で合成した。市販の Mon ナトリウム塩 (2) を出発原料とし、ナトリウムイオンとプロトンを交換したのちに、生じたカルボン酸とメタノールを縮合してメチルエステル 3 を得た。続いて、位置選択的に 26 位のヒドロキシ基をカルボン酸に酸化し、プロパルギルアミン 4 と縮合してプロパルギルアミド 5 へと導いたのちに、水酸化トリメチルスズによりメチルエステルをカルボン酸に変換した。最後に、上述のペプチド 2 と化合物 6 を Huisgen 反応により連結し、目的とする Mon-ペプチド複合体 7 の調製を完了した。

図 5

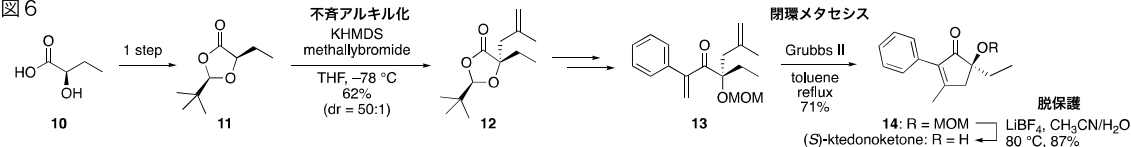


4. 研究成果

Mon-ペプチド複合体 7 を含む一連の化合物の黄色ブドウ球菌 (*S. aureus* ATCC29213 および *S. aureus* SA5) に対する抗菌活性試験を行なった (図 5 中の表)。その結果、残念ながら Mon ナトリウム塩 (2) よりも複合体 7 の方が抗菌活性が低下する結果となった。また、ペプチドを連結する前駆体 6 の段階で既に 2 よりも抗菌活性が低下していることも判明した。このことから、2 の修飾方法に問題があると考察されたため、26 位をプロパルギルアミドとは別の官能基に変換することにした。再度、既知の構造活性相関に基づき (*J. Antibiot.* **1983**, 36, 1195), 検討したところ Mon と 3-エチルアニリン 8 との縮合の結果得られたカーバメート 9 が 2 よりも 4 倍程度強力な抗菌活性を示すことを見出した。一方ペプチド側については、ごく最近、上述の 7 残基ペプチドよりも再現性と吸着能に優れた 12 残基のペプチドを米山らが見出した (論文未発表のため配列の公表は差し控える)。今後はこの 12 残基ペプチドとカーバメート 9 を連結して、Mon そのものの抗菌活性を凌駕する特異的な抗菌剤の創成を目指す。

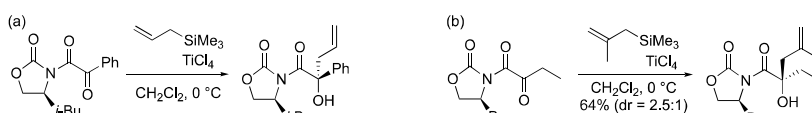
この他にも、本コンセプトの適用を目指して、いくつかの生理活性天然物の全合成を達成した。好熱性細菌から単離された (S)-クテドノケトンの合成については、市販の光学活性カルボン酸 10 を出発原料とし、Seebach 不斉アルキル化反応 (11-12) と閉環メタセシス反応 (13-14) を鍵反応として初の全合成を達成した (図 6, *Tetrahedron Lett.* **2021**, 61, 151915)。

図 6



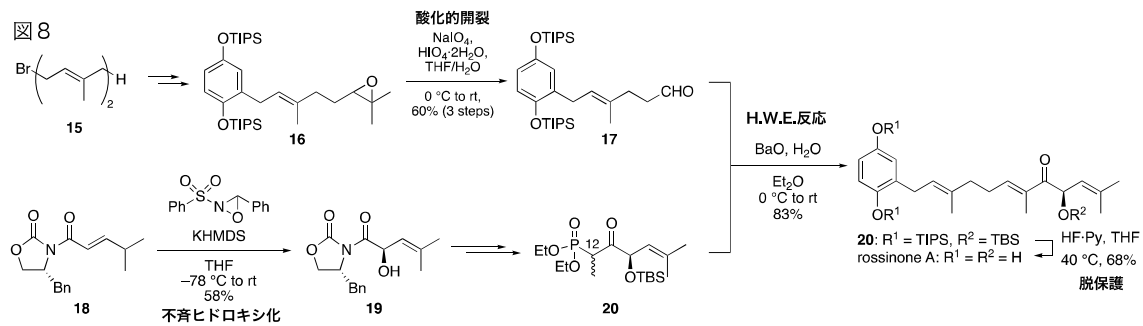
また本研究で当初計画していた合成経路において、既報の反応 (図 7 (a), *Chem. Lett.* **1987**, 16, 341) とよく似た基質・反応条件であるにも関わらず、著者らの基質・反応条件では逆の立体配置を有するジアステレオマーが優先的に生成することを見出した (図 7 (b), *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2021**, 85, 488)。

図 7



南極産ホヤから単離された抗ウイルス活性メロテルペン・ロッシニン A の合成研究においては、図 8 に示した合成経路で初の全合成を達成した。ゲラニルプロミド (15) を出発原料としてエポキシドの酸化的開裂 (16-17) により調製したアルデヒド 17 と、既知のオキサゾリジノン 18 の不斉ヒドロキシ化 (18-19) とそれに続く数工程の変換により調製したホスホナート 20 を Horner-Wadsworth-Emmons (HWE) によって連結後、脱保護することによって初の全合成を達成した (*Tetrahedron Lett.* **2021**, 84, 153456)。

図 8



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Sayaka Ishii, Katsuya Saito, Shigefumi Kuwahara, Masaru Enomoto	4. 巻 61
2. 論文標題 Synthesis of (S)-ktedonoketone	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 151915
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2020.151915	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 Sayaka Ishii, Katsuya Saito, Shigefumi Kuwahara, Masaru Enomoto	4. 巻 85
2. 論文標題 Unexpected reversal of stereochemistry observed in the addition of methallyltrimethylsilane to a chiral α -keto imide	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 488-492
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbba086	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 Saito Katsuya, Kurasawa Kazuki, Takino Chiaki, Kuwahara Shigefumi, Enomoto Masaru	4. 巻 84
2. 論文標題 Asymmetric total synthesis of (-)-rossinone A	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 153456-153456
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2021.153456	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 Ishibashi Osamu, Nishiyama Mami, Kwon Eunsang, Hashimoto Masaru, Kuwahara Shigefumi, Enomoto Masaru	4. 巻 85
2. 論文標題 Semipinacol rearrangement of a bicyclo[7.2.0]undecane framework into a bicyclo[6.3.0]undecane skeleton: a model study on the biosynthesis of seiridiasteriscane A	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1621-1627
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbab083	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28件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 齋藤 克哉, 倉沢 一輝, 滝野 ちあき, 桑原 重文, 榎本 賢
2. 発表標題 南極産ホヤ由来メロテルペンrossionone Bの生合成模倣合成
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会（京都）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Osamu Ishibashi, Mami Nishiyama, Eunsang Kwon, Masaru Hashimoto, Shigefumi Kuwahara, Masaru Enomoto
2. 発表標題 Biomimetic chemical transformation of pestalotiopsin B into a seiridiasteriscane skelton
3. 学会等名 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤克哉, 倉沢一輝, 滝野ちあき, 桑原重文, 榎本賢
2. 発表標題 南極産ホヤ由来メロテルペンRossionone Bの生合成模倣合成
3. 学会等名 第65回 香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 榎本賢
2. 発表標題 特異な複素環構造をもつ天然有機化合物の全合成
3. 学会等名 日本農芸化学会東北支部 第156 回大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 半澤瑛一, 目黒康洋, 武田圭太, 榎本賢, 桑原重文
2. 発表標題 Macrotermycin A の全合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会東北支部 第156 回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石橋理, 杉本浩平, 桑原重文, 榎本賢
2. 発表標題 Alchivemycin 類の全合成研究: 新奇複素環構造の構築
3. 学会等名 日本農芸化学会東北支部 第156 回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石橋 理, 西山 真未, 権 垠相, 橋本 勝, 桑原 重文, 榎本 賢
2. 発表標題 有機合成化学的アプローチによる seiridiasteriscane A の生合成に関するモデル研究
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 Katsuya Saito, Kazuki Kurasawa, Chiaki Takino, Shigefumi Kuwahara, Masaru Enomoto
2. 発表標題 Bioinspired total synthesis of rossinone B, a bioactive meroterpenoid isolated from an Antarctic ascidian
3. 学会等名 International Summer Seminar on Organic Chemistry (SSOCJ, Tohoku branch) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Osamu Ishibashi, Mami Nishiyama, Eunsang Kwon, Masaru Hashimoto, Shigefumi Kuwahara, Masaru Enomoto
2. 発表標題 Model study on the biosynthesis of seiridiasteriscane
3. 学会等名 International Summer Seminar on Organic Chemistry (SSOCJ, Tohoku branch) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横川陽向, 石澤誠也, 齋藤克哉, 桑原重文, 榎本賢
2. 発表標題 Quorum sensing 阻害物質 Aculene 類の全合成研究
3. 学会等名 第32回万有仙台シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 榎本賢
2. 発表標題 Synthetic studies of bioactive natural products via bioinspired strategies
3. 学会等名 化学系学協会東北大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤克哉, 倉沢一輝, 滝野ちあき, 桑原重文, 榎本賢
2. 発表標題 南極産ホヤ由来メロテルペンRossinone類の合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会東北支部 第155回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 横川陽向, 石澤誠也, 齋藤克哉, 桑原重文, 榎本賢
2. 発表標題 Quorumsensing阻害化合物aculene類の全合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会東北支部 第155回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石橋 理, 西山 真未, 権 垠相, 橋本 勝, 桑原 重文, 榎本 賢
2. 発表標題 推定生合成経路を模倣したpestalotiopsin Bからseiridiasteriscane骨格への合成化学的変換
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤 克哉, 倉沢 一輝, 滝野 ちあき, 桑原 重文, 榎本 賢
2. 発表標題 南極産ホヤ由来メロテルペンrossinone Aの全合成
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横川 陽向, 石澤 誠也, 齋藤 克哉, 桑原 重文, 榎本 賢
2. 発表標題 Quorumsensing阻害物質aculene Dの全合成
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡 悠介, 高橋 和暉, 桑原 重文, 榎本 賢
2. 発表標題 6-Hydroxyterrefuranoneの全合成と立体化学の解明
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 榎本 賢
2. 発表標題 特異な複素環構造と有用な生物活性を示す天然有機化合物の合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高橋和暉, 桑原重文, 榎本賢
2. 発表標題 推定生合成経路を模倣したAgelamadin Cの合成研究
3. 学会等名 第115回有機合成シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Katsuya Saito, Kazuki Kurasawa, Chiaki Takino, Shigefumi Kuwahara, Masaru Enomoto
2. 発表標題 Synthetic studies on rossinones
3. 学会等名 Tohoku University 's Chemistry Summer School (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小宅真理, 佐藤俊太郎, 小倉由資, 榎本賢, 桑原重文
2. 発表標題 (-)-sinensilactam Aの全合成研究
3. 学会等名 第63回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 目黒康洋, 小倉由資, 榎本賢, 桑原重文
2. 発表標題 Amycolamicinの全合成研究
3. 学会等名 第116回有機合成シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋和暉, 桑原重文, 榎本賢
2. 発表標題 推定生合成経路に基づくAgelamadin Cの合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会東北支部第154回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 榎本賢
2. 発表標題 複素環構造を含む天然物の全合成研究
3. 学会等名 第6回天然物化学研究会シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masaru Enomoto
2. 発表標題 Synthetic Study of Biologically Active Heterocyclic Natural Products
3. 学会等名 The International Symposium of Health Care Technology, Drug Discovery and Chemical Biology (IHDC (招待講演) (国際学会))
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齋藤克哉, 倉沢一輝, 滝野ちあき, 桑原重文, 榎本賢
2. 発表標題 南極産ホヤ由来メロテルペンRossinone 類の合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 横川陽向, 石澤誠也, 齋藤克哉, 桑原重文, 榎本賢
2. 発表標題 クオラムセンシング阻害物質 aculene 類の合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 榎本賢, 倉沢一輝, 高橋和暉, 権塚相, 桑原重文
2. 発表標題 推定生合成機構を模倣した天然物合成
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

東北大学 大学院農学研究科 生物有機化学分野
<https://www.agri.tohoku.ac.jp/yuuki/seibutsuyuki/index.html>

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 分 担 者	米山 裕 (Hiroshi Yoneyama) (10220774)	東北大学・農学研究科・教授 (11301)	

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
---------	---------