

薬感受性増大作用させるベルベリン誘導体の開発

○小谷謙太¹、久綱僚¹、富田純子¹、森田雄二²、河村好章¹

¹愛知学院大学薬学部微生物学研究室、²明治薬科大学感染制御学研究室

【概要】

2019年3月、幕張メッセ 国際会議場で開催された「日本薬学会 第139年会」に参加し、以下の研究内容を口頭発表した。

【諸言】

近年、アミノグリコシド系薬、カルバペネム系薬、キノロン系薬に同時に耐性を持つ多剤耐性緑膿菌 (MDRP) が出現し、治療が困難となっている。緑膿菌における薬剤耐性の原因の一つは、RND型薬剤排出ポンプである。緑膿菌の持つ薬剤耐性系の中でも MexXY 系はアミノグリコシド系薬の耐性に関与することが分かっている。我々は、オウレン、オウバクに含まれる成分であるベルベリンから緑膿菌のアミノグリコシド系薬の感受性を増大させる作用を発見した。また、その作用は、MexXY 依存的事であることが明らかになった。しかし、ベルベリンの持つアミノグリコシド系薬の感受性増大作用の最適濃度は 512 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と高いため、このまま治療に用いることはできない。よって、ベルベリンに有機修飾を行いより強力なアミノグリコシド系薬の感受性増大作用をもつベルベリン誘導体をスクリーニングした。

【方法】

ベルベリンより 11 種類の誘導体を合成した。緑膿菌に発現する薬剤耐性に関与するとして知られている 5 種類の薬剤排出ポンプのうち MexXY 系を除いた 4 種類の薬剤排出ポンプを欠損させた MexXY 発現株と、MexXY 発現株からさらに MexXY 系を欠損させた MexXY 欠損株に対してベルベリン誘導体を併用し、抗菌薬の最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。同様に、緑膿菌臨床株それらの MexXY 系の欠損株、緑膿菌類緑菌である *Achromobacter xylosoxidans* と *Burkholderia cepacia* でも MIC を測定した。MexXY 発現株と MexXY 欠損株にゲンタマイシンもしくはゲンタマイシンとベルベリン誘導体を併用し、1 時間おきに 4 時間菌液を採取し、殺菌曲線を得た。

【結果と考察】

合成した 11 種類のベルベリン誘導体のうち導入したベンジル基に -H、*o*-Br、*o*-F、*o*-Cl、*o*-Me を持つ 5 種類の化合物は、MexXY 発現株に対して、ベルベリンより大きなゲンタマイシンの感受性増大作用を示した。最も感受性増大作用の大きかったのは *o*-Me を持つベルベリン誘導体であり、MexXY 発現株に対して、ゲンタマイシンの MIC を 1024 $\mu\text{g}/\text{mL}$ から 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ まで下げることができた。この化合物を 13-*o*

MBB と名付けた。一方、MexXY 欠損株に対しては、ゲンタマイシンの感受性増大作用は見られなかった。また、MexXY 発現株に対して、13-*o*-MBB は、アミノグリコシド系薬であるアミカシン、カナマイシン、スペクチノマイシンの感受性をベルベリンの2~4倍増大させた。さらに、13-*o*-MBB は、アミノグリコシド系薬以外の抗菌薬であるノルフロキサシン、エリスロマイシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、アジスロマイシン、セフェピムの感受性もベルベリンと比較して2~4倍増大させた。一方、位置異性体である置換基に *m*-Me を持つ化合物と *p*-Me を持つ化合物では、抗菌薬の感受性増大作用がほとんど見られなかった。このことから、*o* 位に配位された13-*o*-MBB のメチル基には MexXY 依存的な抗菌薬感受性増大作用を増強する作用があることが考察された。

緑膿菌臨床株に対しても、13-*o*-MBB の持つ抗菌薬感受性増大作用を調べた結果、ベルベリンと比較してアミノグリコシド系薬の感受性を2~16倍増大させた。一方、アミノグリコシド系以外の感受性は変化させなかった。またこの作用は、MexXY 依存的であり、MexXY を欠損させた臨床株ではアミノグリコシド系薬の感受性増大作用は見られなかった。さらに、13-*o*-MBB は、緑膿菌類緑菌でありアミノグリコシド系薬に高度耐性を持つ *Achromobacter xylosoxidans* と *Burkholderia cepacia* のアミノグリコシド系薬の感受性を32~256倍も増大させた。

MexXY 発現株に対して、ゲンタマイシン 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 単剤、ゲンタマイシン 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とベルベリン 256 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の併用及びゲンタマイシン 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と 13-*o*-MBB 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の併用下でゲンタマイシンの殺菌作用の変化を調べた結果、MexXY 発現株はゲンタマイシン 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の暴露で殺菌されなかった。また、ベルベリン 256 $\mu\text{g}/\text{mL}$ もしくは 13-*o*-MBB 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 単剤でも殺菌作用は確認されなかった。ベルベリン及びベルベリン誘導体を併用すると、3時間ほどで MexXY 発現株に対する殺菌作用が確認された。さらに4時間後には13-*o*-MBB 併用下ではベルベリンの10倍以上の殺菌活性を確認することができた。

これらのことから、ベルベリン誘導体 13-*o*-MBB は、ベルベリンより強力な MexXY 依存的アミノグリコシド系薬の感受性増大作用があることが示された。

【感想】

第139回 日本薬学会は、微生物だけでなく薬理や有機合成など全く別の研究も集まり、自分の分野だけでは見られない視点や研究手法を見る非常にいい勉強になりました。特に自分の行き詰っている内容の分野が分析系であったため、終始微生物以外の分野でいろいろな勉強をさせていただきました。最後に愛知学院大学薬学会の支援により、本学会に参加させていただきました誠にありがとうございました。