

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 創薬基盤推進研究事業  
(英語) Research on Development of New Drugs

研究開発課題名： (日本語) 薬用植物ライブラリーを用いたカルバペネム耐性腸内細菌、多剤耐性アシネトバクター・緑膿菌および薬剤耐性結核菌に対する新規抗菌薬の探索  
(英語) Screening of medicinal plant resources for novel antibiotic agents against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*, multidrug-resistant *Acinetobacter* spp. and *Pseudomonas aeruginosa*, and drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*

研究開発担当者 (日本語) 国立国際医療研究センター研究所感染症制御研究部 部長 切替照雄  
所属 役職 氏名： (英語) Teruo Kirikae, Director, Department of Infectious Diseases, Research Institute, National Center for Global Health and Medicine

実施期間： 平成28年 4月 1日 ~ 平成29年 3月31日

分担研究 (日本語) 抗菌活性スクリーニング  
開発課題名： (英語) Screening for antimicrobial agents

研究開発分担者 (日本語) 国立国際医療研究センター研究所感染症制御研究部 部長 切替照雄  
所属 役職 氏名： (英語) Teruo Kirikae, Director, Department of Infectious Diseases, Research Institute, National Center for Global Health and Medicine

分担研究 (日本語) 抗菌を指向した植物エキスライブラリーの提供  
開発課題名： (英語) Providing a plant extract library for antimicrobial agents

研究開発分担者 (日本語) 国立医薬基盤・健康・栄養研究所 薬用植物資源研究センター・センター長・川原 信夫  
所属 役職 氏名： (英語) Nobuo Kawahara, Director, Research Center for Medicinal Plant Resources, National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition

- 分担研究 (日本語) ヒットエキス中の活性成分の分離精製と化学構造の解明  
開発課題名: (英語) Purification of active compounds and identification of chemical structure
- 研究開発分担者 (日本語) 国立医薬基盤・健康・栄養研究所 薬用植物資源研究センター 栽培研究室・室長・淵野 裕之  
所属 役職 氏名: (英語) Hiroyuki Fuchino, Head of Cultivation Laboratory, Research Center for Medicinal Plant Resources, National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition
- 分担研究 (日本語) マウス感染実験  
開発課題名: (英語) Mice infection experiment
- 研究開発分担者 (日本語) 栃木県保健環境センター 微生物部・部長・舩渡川 圭次  
所属 役職 氏名: (英語) Keiji Funatogawa, Director, Department of Microbiology, Tochigi Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

(和訳)

国立国際医療研究センターは国立医薬基盤研・薬用植物資源センターおよび栃木県保健環境センターと共同で薬用植物ライブラリーを用いたカルバペネム耐性腸内細菌、多剤耐性アシネトバクター・緑膿菌および薬剤耐性結核菌に対する新規抗菌薬のスクリーニングを実施した。

国立医薬基盤研らのグループは、植物採取・同定・エキス作成、類縁植物の採取し、植物エキスライブラリーを作製した。抗菌活性を持つと予想されるアルカロイド含有量が多いケシ科植物および精油含量が多いシソ科、セリ科、ミカン科植物を収集した。四国、東北、北陸、信越、北海道地区にて採集し、植物種を同定した。これらのサンプルはアルコール抽出した。

現在までに多剤耐性結核菌および多剤耐性緑膿菌に対して8872種、カルバペネマーゼ阻害活性に対しては8870種類、多剤耐性アシネトバクター、カルバペネム耐性腸内細菌 (CRE) に対しては8797種類のエキスの一次スクリーニングを行った。結核菌株では6432中512サンプルが陽性であった (陽性率8.0%)。多剤耐性緑膿菌株では8872中518サンプルが陽性であった (陽性率5.8%)。多剤耐性アシネトバクター株では8797中415サンプルが陽性であった (陽性率4.7%)。CREでは8797中10サンプルが陽性であった (陽性率0.11%)。2次スクリーニングによって、多剤耐性結核に抗結核活性を示した28サンプル、多剤耐性緑膿菌だけに抗菌活性を示した152サンプル、多剤耐性アシネトバクターだけに抗菌活性を示した140サンプルに絞られた。2次スクリーニングで分析可能なサンプルを解析した結果、抗結核作用のある3種類の化合物を同定した。カルバペネマーゼ阻害剤に関するスクリーニングでは予定されたカルバペネマーゼの内、IMP-1およびNDM-1を用いた阻害剤スクリーニングを実施した。6109中46サンプルがIMP-1阻害活性を示した (陽性率0.75%)。7254中80サンプルがNDM-1阻害活性を示した (陽性率1.1%)。予定されたカルバペネマーゼ以外のカルバペネマーゼ

VIM-2においても阻害剤スクリーニングを実施した結果、7254中22サンプルがVIM-2阻害活性を示した（陽性率0.30%）。IMP-1阻害活性を示したサンプルを更に分画し、活性の主成分を同定した。

カルバペネマーゼ阻害に対するスクリーニングで陽性だったサンプルを精製し、1種の化合物を同定し、化学構造を解明した。アシネトバクター及びCREに対して共通に陽性であった5種のサンプルを精製し、1種の化合物を同定し、化学構造を解明した。抗多剤耐性結核菌活性が認められた3種の化合物を精製し、化学構造を解明した。多剤耐性結核菌に対する抗菌活性を示した1化合物に対して結核感染マウスを用いた薬効試験を実施したが、抗結核作用は確認できなかった。原因は強い副作用（下痢）のためと考えられる。緑膿菌呼吸器感染症マウスモデルおよびCRE敗血症マウスモデルを構築した。

(英訳)

National Center for Global Health and Medicine (NCGM) conducted screening in a medicinal plant library for new potential antibiotics against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE), multidrug-resistant (MDR) *Acinetobacter* spp. and *Pseudomonas aeruginosa*, and multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* (MDR-TB) in collaboration with Research Center for Medical Plant Resources at National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition (NIBIOHN) and Tochigi Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science.

NIBIOHN first conducted collection and identification of the plants of interest and extraction of the plant compounds; they additionally collected related plants based on the initial findings to develop a plant extract library. The plant collection was focused on species, including *Papaveraceae*, *Lamiaceae*, *Apiaceae*, and *Rutaceae*, and the collection sites for those plants were in the districts of Hokkaido, Touhoku, Hoku-riku, Shin-etsu, and Shikoku.

After the extract library was established, the preliminary screening was performed in: 8,872 extracts for MDR-TB and MDR *P. aeruginosa*, 8,870 extracts for carbapenemase inhibitors, and 8,797 extracts for MDR *Acinetobacter* spp. and CRE. The numbers of extracts which had antimicrobial activity were: 512 (8.0%) of 6,432 extracts against MDR-TB; 518 (5.8%) of 8,872 extracts against MDR *P. aeruginosa*; 415 (4.7%) of 8,797 extracts against MDR *Acinetobacter* spp.; and 10 (0.11%) of 8,797 extracts against CRE. The following secondary screening further dropped the numbers of the candidates for antimicrobial activity: 28 extracts against MDR-TB, 152 extracts against MDR *P. aeruginosa*, 140 extracts against MDR *Acinetobacter* spp. This secondary screening allowed us to analyze three extracts which had antimicrobial activity against MDR-TB. For carbapenemase inhibition screening, there were 46 (0.75%) of 6,109 extracts showed inhibitory activity against IMP-1 while there were 80 (1.1%) of 7,254 extracts, which had inhibitory activity against NDM-1. In addition, we used VIM-2 and found that 22 (0.30%) of 7,254 extracts had inhibitory activity. We identified main compounds responsible for the IMP-1 inhibitory activity.

We further analyzed the extracts with desired activities and identified their chemical structures for each category: one compound with carbapenemase inhibition activity, one compound against MDR *Acinetobacter* spp. and CRE, and three compounds against MDR-TB. We used one of the three MDR-TB compounds in an experiment with TB infected mice; however, the compound failed to show its expected antimicrobial

activity. One of the possible explanations was that the mice suffered severe diarrhea which was an apparent adverse effect of the compound. We also constructed two mice experiment models for respiratory infection with *P. aeruginosa* and sepsis with CRE.

### III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 件、国際誌 件）  
該当なし
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表  
該当なし
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
該当なし
- (4) 特許出願  
該当なし