
演題名 アミロライド等のグアニジル基を持つ化合物のNa⁺-駆動型べん毛モータに対する阻害作用と新しい阻害剤としてのアミロライド誘導体合成の試み

氏名 ○渥美龍男 1、濱田茜 2、佐藤理絵 2、山下恵美 2、吉村文信 3、杉山滋 4、富沢好太郎 2

所属 1 岐医科大・保健科学・衛生、2 鈴鹿高専・生応化、3 愛学・歯・微生、4 食総研

【目的】 細菌の持つべん毛モータは細胞膜を介した電気化学的勾配に従って共役イオンが流入する時に得られるエネルギーを利用して回転していることが分かっており、電気化学的エネルギーを回転による力学的な仕事にエネルギー変換する仕組みについて興味を持たれている。エネルギー変換機構を解明するためには入力であるイオン流入の仕組みと出力であるべん毛モータの回転の両方を知る必要があるが、ここでは前者に注目して話をすすめる。べん毛モータには現在共役イオンがプロトンのものとナトリウムイオンのものの2種類が知られているが、後者では動物細胞のナトリウムチャネルの阻害剤として知られているアミロライドがナトリウムイオンと拮抗的な阻害作用を示すことが分かっている。この報告では、ナトリウムイオン駆動型べん毛モータのナトリウムイオン結合部位に関する研究を発展させるためにアミロライドの新たな誘導体の合成を試みたので、その結果について報告する。

【方法】 既に報告しているように、アミロライド以外にアルギニンも阻害作用を示すことから、阻害作用を示す官能基はグアニジル基で有ると考えられる。また、これまで合成されたいくつかの誘導体の阻害効果から、ピラジン環の部分ではなく、グアニジル基の周辺を修飾するとナトリウムイオン駆動型べん毛モータに対する特異性が高まると期待できる。これらの知識を念頭においていくつか誘導体を合成した。アミロライド誘導体の合成はメルク者のクレイゴ博士らにより報告されている方法により行い、合成反応、産物の確認はTLC及びNMRを用いて行った。ナトリウムイオン駆動型べん毛モータを持つ細菌は現在主に好アルカリ性バチルスとビブリオ菌の2属が知られているが、前者の方が生理的条件

でイオン強度が低く、その方が薬剤が析出しにくいために水溶液中でより高い濃度を実現出来ると考えられるため、前者を用いた。合成した薬剤のべん毛モータに対する阻害作用は、既に報告している様に、菌体の遊泳の様子を暗視野顕微鏡に接続したテレビカメラで撮影し、その動画を処理することにより菌の遊泳速度を測定して、定量した。

【結果】 新たに合成した誘導体の中で、ナトリウムイオン駆動型べん毛モータに対し阻害作用が確認出来た化合物はグアニジル基の部分にナフチル基を導入したナフタミルと、現在知られているもっとも強力な阻害剤であるフェナミル（グアニジル基にフェニル基を導入）のピラジン環についている塩素をヨウ素に置換したヨードフェナミルの2種類であった。前者の阻害効果はフェナミルよりは弱いですが、ベンザミル（グアニジル基にベンジル基を導入）より強く、また、フェナミルに対する感受性が弱くなった変異株に対して野生株に対するのと同様の阻害作用を示した。後者はフェナミルと同等の阻害作用を示した。

【考察】 ナフタミルはフェナミル変異株に対する阻害作用の結果から、フェナミルとは少々異なる部位に作用していると期待出来、イオン透過部位に関する情報を得るために有用で有ると期待出来る。また、ヨードフェナミルは紫外線照射により共有結合を作ると期待出来、阻害剤が作用しているタンパクすなわちイオン透過タンパクのイオン認識部位近くのアミノ酸をラベルする事が期待出来る。

【結語】 今後はさらに新たな誘導体の合成を試みると共に、阻害作用が確認出来た誘導体を利用して、ナトリウムイオン駆動型べん毛モータのイオン透過、イオン認識に関する研究を進めたい。