

機関番号：33101

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20710172

研究課題名 (和文) ブラジキニン受容体の作用機構解明に関する研究

研究課題名 (英文) Mechanistic study on the Bradykinin B1 receptor

研究代表者

田宮 実 (TAMIYA MINORU)

新潟薬科大学 応用生命科学部 助教

研究者番号：10468960

研究成果の概要 (和文) : G タンパク質共役型受容体ファミリーに属するブラジキニン B1 受容体(B1R)の作用機構解明を目的に、当該受容体に対し拮抗作用を示す、ベルチノール A と B1R との結合様式の予想と、その合成研究を行った。はじめに、B1R とベルチノール A との複合体モデルをホモロジーモデリング法により予想した。その結果、B1R がベルチノール A を認識する上で重要な官能基の予想に成功した。続いて、当該化合物の合成を行った。これには、多少の検討が必要であったが最終的に、ベルチノール A の全ての炭素骨格を有する化合物の合成に成功した。これを適宜官能基化することによりベルチノール A の全合成が達成できる。

研究成果の概要 (英文) : The Bradykinin B1 receptor (B1R), belonging to GPCR family, plays an important role in the pathophysiological process of pain and inflammation. Because of these reasons, we aimed to the clarification of the mechanism of action of B1R. First, we constructed the structural models of the B1 receptor. Then, velutinol A was docked in the models of the B1 receptor, followed by energy-minimization and structure-optimization with molecular dynamic calculations. From this docking simulation, we could anticipate the important substituent of velutinol A for the binding to B1R. On the other hand, we have also started the synthesis of velutinol A. Finally we could synthesize the key intermediate for the following synthesis and SAR study. Now we are pushing on the total synthesis of velutinol A and its analogs for the study of mechanism of action of B1R.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：生物分子科学

キーワード：有機合成、コンピュータシミュレーション

## 1. 研究開始当初の背景

近年、細胞間の情報伝達、視覚、嗅覚、味覚の認識において、細胞膜に存在する様々な G タンパク質共役型受容体 (GPCR) が重要な役割を果たしていることが明らかとなり、その

作用機構の解明が急務となっている。また、GPCR を標的とする薬物は多く、現在用いられている認証薬の約 60% が、特定の GPCR と特異的に相互作用し薬効を発揮すると知られており、GPCR の詳細な作用機構の解明

は創薬研究をする上でも大変重要である。すなわち、今後の研究展開によっては、新薬開発への道が開けるとともに、革新的な医療への貢献ができる可能性を秘めている。そのため、多くの研究者が GPCR の機能並びに構造に関する研究を行っており、ロドプシンについては、作用機構が、ある程度詳細に明らかにされている。また、膜タンパク質の単離精製には煩雑な作業を要し、結晶化に必要な試料を入手することが非常に困難であるため、現在までに X線結晶構造解析により立体構造が決定されているのは、当時、ウシロドプシンのみであった。すなわち、GPCR の構造および作用機構に関する研究は依然として発展途上にあり、その作用機構を分子レベルで解明することは、現在の大きな研究課題となっている。

## 2. 研究の目的

これまでに見出されている GPCR には、多様な生理機能に関わるものが多数知られているが、中でも降圧、平滑筋収縮、発痛、血管透過性亢進など強力かつ多彩な生理活性を仲介するモノとしてブラジキニン (BK) 受容体 (B1, B2) がある。一方の B2 受容体は喘息や鼻炎において、気道狭窄や鼻閉などの症状発現に関与していることが報告され、盛んに研究が行われたが、他方の B1 受容体に関しては特異的拮抗薬の開発が遅れていることもあり、その正確な役割については、さらに検討の必要があるとされている。B1 受容体に焦点をおき、その作用機構の解明を目的として研究を進めた。

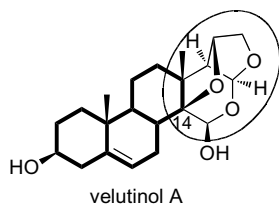
## 3. 研究の方法

B1 受容体に対して特異的にバインディングするステロイド系化合物ベルチノール A に注目し、B1 受容体の作用機構の解明のため、一連の研究を、モデリング→有機合成→生理活性の評価という三つのプロセスを通すことにより、迅速に進めることを計画した。すなわち、1) 分子モデリングをベースにベルチノール A の生理活性に必要な、空間、電子的要因、活性部位を予測し、アンタゴニストリガンド構造をデザインする、2) デザインしたアンタゴニストの合成と評価を行い、得られたデータを分子モデリングに生かし精度を上げる、という手順で研究を進めた。

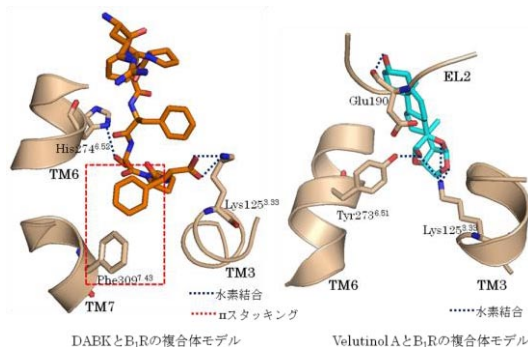
## 4. 研究成果

### ①分子モデリング

計算化学的手法を用いることにより、B1R の活性型、不活性型に相当する構造の予測に成功した。また、予測した B1R の構造

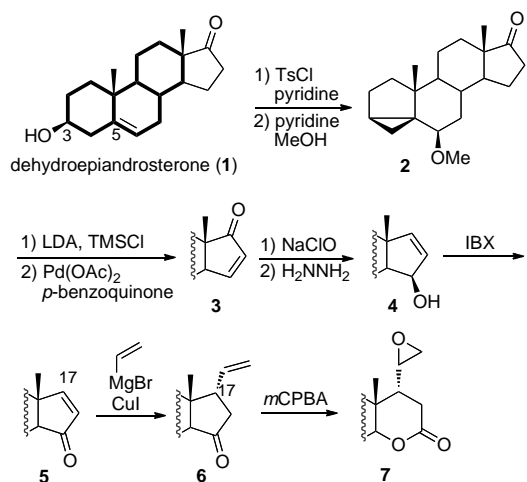


に対し、拮抗作用が認められた様々な化合物をドッキングシミュレーションしたところ、それぞれに対し、現在までに得られている生化学的なデータを合理的に説明できる複合体モデルを得ることができた。中でも、生体内活性物質として知られているペプチド系化合物 Des-Arg<sup>9</sup>-bradykinin (DABK; H-Arg<sup>1</sup>-Pro<sup>2</sup>-Pro<sup>3</sup>-Gly<sup>4</sup>-Phe<sup>5</sup>-Ser<sup>6</sup>-Pro<sup>7</sup>-Phe<sup>8</sup>-OH) と (次ページ左図)、拮抗作用が認められているステロイド系化合物 velutinol A とが (次ページ右図)、受容体側の結合部位として重要と認められているアミノ酸残基 (Lys125) に同様の認識様式で結合していることが予測でき、velutinol A の B1R に対する拮抗作用発現に重要な官能基を予測する事が出来た。

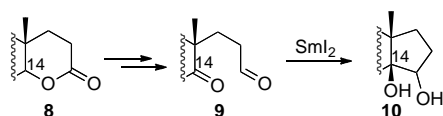


### ②有機合成

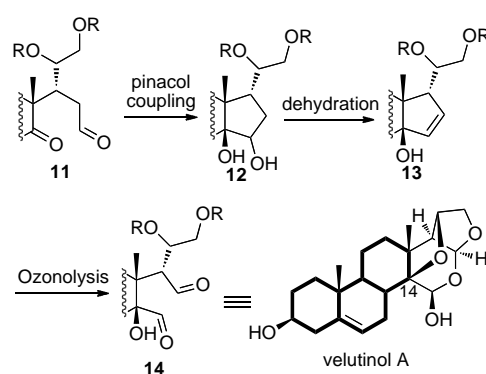
ドッキングシミュレーションの結果から、velutinol A の DEF 環部が生理活性発現に重要な役割を果たすことが予想できたので、実際に velutinol A およびその類縁体の合成に着手した。本研究では、DEF 環部の構築法の開発が、鍵となるため、velutinol A の ABC 環部がすでに整った、化合物 **1** を出発物質と設定し D 環部の変換を行うこととした (下図)。Velutinol A を合成するにあたり、C17 への立体選択的 C2 ユニットの導入および C14b 選択的水酸化の二つが問題として考えられた。始めに、3位水酸基を Ts 化し、得られた化合物を塩基で処理する事により、シクロプロパン **2** へと変換することに成功した。得られた化合物 **2** を三枝酸化反応の条件に賦す事により、エノン **3** に変換後、生じた二重結合を次亜塩素酸でエポキシ化、続くワートン反応によりアリルアルコール **4** へと誘導する事ができた。



cf.



ワートン反応においては、スケールアップに問題が残されていたが、種々検討することにより、再現性よく化合物 **4** を得ることに成功した。次に化合物 **4** の水酸基を IBX にて酸化後、ビニルグリニアとヨウ化銅を作用して調整した有機銅試薬により、エノン **5** の C17 位に立体選択的に C2 ユニットを導入された化合物 **6** を得る事が出来た。このように立体選択的に C2 ユニットを導入する事ができたが、次の課題は、C14b 選択的水酸化であったため、この問題を解決するため種々検討をおこなった。その結果、化合物 **5** から水素添加反応およびバイヤービリガー反応から誘導した、ラクトン **8** をケト-アルデヒド **9** へさらに変換後、2 価のヨウ化サマリウムを用いたピナコール環化反応を行い、立体選択的に水酸基を C14 位に導入することに成功した。この結果を基に、化合物 **6** に対し mCPBA を作用させたところ、予想通りバイヤービリガー反応とエポキシ化反応が同時に進行して得られた化合物 **7** の合成に成功した。現在、化合物 **7** を **11** に変換する検討を行っている(下図)。今後は、**11** のピナコール反応、生じた **12** の脱水反応、さらに、オゾン酸化を行うことにより **velutinol A** の不斉全合成を達成できると考えられる。さらにこの方法が確立されれば、これを用いた、各種誘導体合成も可能となる。



## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 4 件)

①井坂修久、○安達晃弘、納富勇輔、田宮実、米田照代、石黒正路、ブラジキニン B1 および B2 受容体トリガンドの複合モデリングによる相互作用の解析 (ポスター発表) 第 36 回構造活性相関シンポジウム (神戸国際会議場、平成 20 年 11 月 2 日)

②○井坂修久、安達晃弘、納富勇輔、田宮実、米田照代、石黒正路、Structural Models for Bradykinin B1 Receptor-ligand Complexes (ポスター発表)、The Eighth China-Japan Joint Symposium On Drug and Development (神戸国際会議場、平成 20 年 11 月 3 日)

③○井坂修久、高田楓太、田宮実、米田照代、石黒正路、Velutinol A の合成研究 (口頭発表)、日本薬学会第 129 年会 (国立京都国際会館、平成 21 年 3 月 28 日)

④○井坂修久、高田楓太、田宮実、米田照代、石黒正路、Velutinol A の合成研究 (口頭発表)、第 58 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム (長岡技術化学大学、平成 21 年 11 月 28 日)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

田宮 実 (TAMIYA MINORU)

研究者番号: 10468960

(2)研究分担者  
なし  
研究者番号：

(3)連携研究者  
なし  
研究者番号：