

令和 4 年 5 月 25 日現在

機関番号：32607

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16926

研究課題名（和文）耐性を生じない鎮痛薬を志向した新規 μ -ヘテロダイマー受容体選択的作動薬の創出研究課題名（英文）Development of novel μ -delta opioid receptor agonistic analgesics without analgesic tolerance

研究代表者

平山 重人 (Hirayama, Shigeto)

北里大学・薬学部・助教

研究者番号：40565842

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）：新規 μ -受容体作動薬候補であるキノキサリン誘導体SYK-663と6,14-エポキシモルヒナン誘導体SYK-642を基にしてより高い受容体選択性と作動活性を有する化合物を見出すため、新規化合物の設計・合成を行った。SYK-663誘導体は15化合物合成し、うち10化合物が評価済みである。SYK-642誘導体は7化合物合成し、評価を行った。SYK-663誘導体からは μ -受容体選択性が向上した化合物を2つ見出すことが出来た。一方、SYK-642誘導体からは μ -受容体選択性を向上した化合物を見出すことは出来なかった。現在はSYK-663を基にさらなる構造展開を行っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

緩和医療の現場では、オピオイド鎮痛薬の長期使用による鎮痛耐性が問題になっており、オピオイドの増量、オピオイドスイッチなどにて対応しているものの、満足のいく治療効果を得られていない場合がある。このことから鎮痛耐性を形成しない新たなオピオイド鎮痛薬の開発が望まれている。一方、 μ -受容体作動薬が鎮痛耐性を形成しない強力な鎮痛薬になり得ること、モルヒネ鎮痛耐性形成時にも鎮痛効果を発揮ことが示されている。しかし、既出の μ -受容体作動薬は選択性、活性ともに十分とは言えない。本研究で見出された新規 μ -受容体作動薬は現状のオピオイド鎮痛薬の問題点の1つを解決する一助になり得ると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We found a quinoline derivative SYK-663 and a 6,14-epoxymorphinan derivative SYK-642 as novel μ -heterodimer agonist candidates. To develop more efficacious and selective μ -heterodimer agonists, we designed and synthesized SYK-663 derivatives and SYK-642 derivatives. We evaluated agonistic activities of 17 derivatives and found two more selective μ -heterodimer agonists than the parent compound SYK-663. We are conducting further modification of SYK-663 derivatives.

研究分野：創薬化学

キーワード： μ -受容体

1. 研究開始当初の背景

オピオイド受容体には μ 、 δ 、 κ の3つのタイプが存在する。1999年以降、オピオイド受容体がモノマー(単量体)としてだけでなく、ヘテロダイマー(μ - δ など)を形成すること、また、ヘテロダイマーはそれぞれのモノマーとは異なる薬理特性を有することが報告された(*Nature*, **1999**, *399*, 697.; *PNAS*, **2011**, *108*, 5098.)。この事実は、これからの新規薬物の開発にはモノマーのみならず、ヘテロダイマー受容体もその標的として考慮する必要があることを示している。また、緩和医療の現場では、モルヒネを含むオピオイド鎮痛薬の長期使用による鎮痛耐性が問題になっており、オピオイドの増量、オピオイドスイッチおよび鎮痛補助薬の併用にて対応しているものの、満足のいく治療効果を得られていない場合がある。さらに最近、代表的な μ 作動性鎮痛薬であるモルヒネの慢性処置により、マウスの脊髄や脳内において μ - δ 受容体が増加することが報告され(*Sci. Signal.*, **2010**, *3*, ra54.)、モルヒネ鎮痛耐性には μ - δ 受容体形成が重要な役割を果たしている事が示唆された。一方、30万化合物以上の化合物ライブラリーのランダムスクリーニングより、 μ - δ 受容体に対し、ある程度の選択性を示す作動薬 ML335 が見出されている(*PNAS*, **2013**, *110*, 12072.)。この ML335 はマウス tail-flick 試験において鎮痛効果を示し、さらに鎮痛耐性を形成せず、モルヒネ鎮痛耐性マウスに対しても鎮痛効果を示した。この結果は μ - δ 受容体作動薬が鎮痛耐性を形成しない強力な鎮痛薬になり得ること、さらにモルヒネ鎮痛耐性形成時にも鎮痛効果を十分に発揮できることを示している。しかし、ML335 は μ - δ 受容体に対し、*in vitro*において efficacy, potency 共に低く、加えて μ - δ 受容体選択性も十分とは言えない。ML335 が臨床開発のステージに上がっていない中、ML335 を上回る作動活性、 μ - δ 受容体選択性および鎮痛作用を有する化合物を見出せば、現在臨床使用されているオピオイド鎮痛薬以上に良好な疼痛コントロールを可能とする鎮痛耐性を発現しない薬物の創出に繋がるだけでなく、 μ - δ 受容体を含むヘテロダイマー受容体の生体内における機能解析に重要なツールになると考えられる。一方、これまでに当研究室が保有する化合物ライブラリーの中から200化合物を選定し、スクリーニングを行った結果、ML335 と同等もしくはそれ以上の μ - δ 受容体作動活性を示した化合物を87個見出した。さらにヒット化合物の中から μ - δ 受容体に対し高い作動活性を示し、かつ μ 受容体および δ 受容体に対する作動活性が低い9化合物を選び、 μ - δ 受容体に対する濃度反応曲線を作成した。その結果、ML335 と比較し、より強力な μ - δ 受容体作動薬として6化合物を見出した。

2. 研究の目的

本研究では①6種の化合物の中から特に μ - δ 受容体作動活性が強力なプロペラン型化合物 SYK-556 とキノキサリン誘導体 SYK-664 の構造をこれまでの構造活性相関を指標に構造変換を行い、ML335 を凌ぐ μ - δ 受容体作動活性および選択性を有する化合物の合成②改良した化合物を用いて鎮痛効果、鎮痛耐性形成能を ML335 と比較解析し、ML335 を超えるより良い「副作用の無いオピオイド鎮痛薬」開発の基礎データの構築を目的とする。

3. 研究の方法

①化合物の構造変換

申請者はこれまで東京慈恵会医科大学疼痛制御研究講座の上園保仁特任教授と共に作製した μ 受容体単独発現細胞、 δ 受容体単独発現細胞、および μ 受容体と δ 受容体が1:1で安定に発現している共発現細胞を用いて*in vitro*評価を行い、 μ - δ 受容体作動活性を有する有望な化合物を6種見出している。これらの化合物の中から μ - δ 受容体作動活性が特に優れている SYK-556 と SYK-664 を選択し、以下に示す囲った箇所を構造変換させ、 δ 受容体への親和性を抑制し、 μ - δ 受容体選択性を向上させる構造を同定する。SYK-664 の構造変換は類似化合物である KNT-127 の構造活性相関研究 (*Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, *20*, 6302.; *Bioorg. Med. Chem.*, **2012**, *20*, 5810.; **2013**, *21*, 7628.) を、SYK-556 の構造変換は過去の構造活性相関研究 (*Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2011**, *21*, 4104.; **2012**, *22*, 2775.; **2015**, *23*, 6271.) を参考にし、行う予定である。なお、構造変換は μ - δ 受容体への potency がより強力な SYK-664 を優先して行い、変換による各受容体に対する活性の変化(構造活性相関)を確認する。

また、所属研究室ではオピオイド受容体を標的とした化合物を日々合成している。合成された化合物の中には μ - δ 受容体ではなく、 μ 、 δ 、または κ 受容体を標的とした化合物も存在する。これらの化合物に対しても μ - δ 受容体に対する作動活性評価を行っている。今後その中から SYK-664 や 556 以上の有望な化合物が見出された場合、我々の過去の報告を参考にし、同様に構造変換を行い、解析を進める。

②化合物の作動活性評価

作動活性評価は上園保仁特任教授の協力の下、 μ 受容体安定発現細胞、 δ 受容体安定発現細胞、および μ 受容体と δ 受容体が 1:1 で安定に発現している共発現細胞を使用し、ハイスループット性の高い CellKey™ system (*J. Pharmacol. Sci.*, **2014**, *126*, 302.)または cAMP assay を用いて行う。活性評価時の各受容体の標準作動薬として DAMGO (μ 受容体作動薬)、SNC-80 (δ 受容体作動薬)、および ML335 (μ - δ 受容体作動薬)を使用する。

③化合物の鎮痛効果および鎮痛耐性形成能の検討

μ - δ 受容体に対する EC₅₀ 値が 100 nM 未満、Emax 値が 80%以上かつ、EC₅₀ 値比(μ / μ - δ および δ / μ - δ)が 20 倍の μ - δ 受容体作動薬はマウスを用いた tail-flick 試験等を行い、鎮痛効果を確認する。さらに鎮痛効果を示し、ED₅₀ 値が ML335 と同等もしくはより高活性である ED₅₀ 値 < 5 mg/kg (s.c.)の化合物は鎮痛耐性形成能を調べ、鎮痛耐性形成能の程度を ML335 と比較する。なお、化合物の構造変換は作動活性評価およびマウスを用いた鎮痛作用の評価にて得られた情報を基に随時行うものとする。

4. 研究成果

「SYK-664 誘導体合成と評価結果」

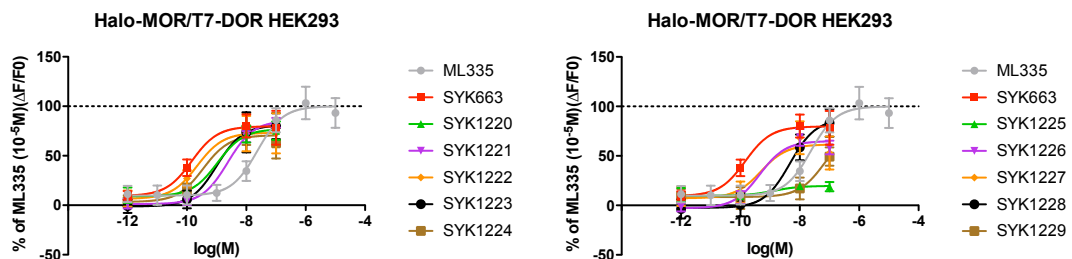
当初の計画ではキノキサリン誘導体 SYK-664 の構造変換を行うことになっていたが、その後の検討より水素を OH 基(SYK-663)へと変換しても μ - δ 受容体への作動活性に影響が無いことを見出した(研究課題 16K19216 にて報告済み)。原料は OH 基を有することから SYK-663 は SYK-664 と比較し、脱水反応と水素添加反応を行わない為、誘導体合成が簡素化出来ると考え、SYK-663 を基に誘導体を合成する事とした。

窒素置換基の変換を目的とし、3 位にメトキシ基を有する SYK-663 に無水酢酸を用いて OH 基の Ac 化を試みた。種々検討を行ったが無反応か脱水反応が進行してしまう結果となった。また、他の方法も試みたが十分な結果は得られなかったことから本ルートでの誘導体合成は諦めた。次にあらかじめ窒素置換基に benzyl 基を有する化合物を経由し、キノキサリン環構築を行った後、水素添加反応を用いて脱 benzyl 化し、17 位を NH としたキノキサリン誘導体を合成した。続いて、窒素置換基に直鎖アルキル基とフェニル基を有するアルキル基を導入することとした。直鎖アルキル基として methyl 基から pentyl 基の 5 つを導入した。フェニル基を有するアルキル基として phenethyl 基から phenylpentyl 基の 4 つを導入した。また、中間体として取得している benzyl 基を有する誘導体も評価化合物とした。

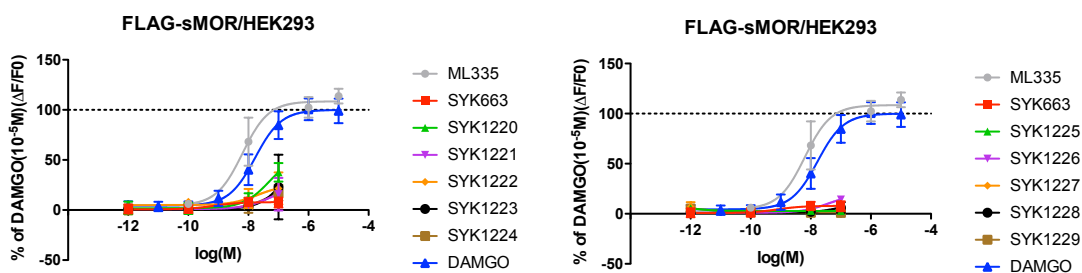
化合物番号	窒素置換基	化合物番号	窒素置換基
SYK-663:	cyclopropylmethyl基		
SYK-1220:	methyl基	SYK-1225:	benzyl基
SYK-1221:	ethyl基	SYK-1226:	phenethyl基
SYK-1222:	propyl基	SYK-1227:	phenylpropyl基
SYK-1223:	butyl基	SYK-1228:	phenylbutyl基
SYK-1224:	pentyl基	SYK-1229:	phenylpentyl基

評価結果 (cAMP assay)

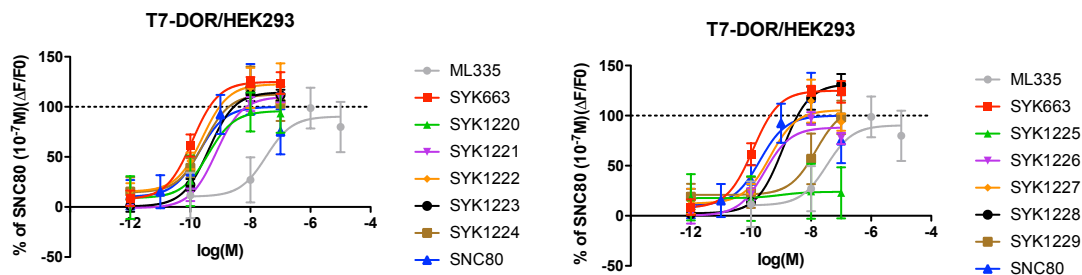
μ - δ 受容体作動活性



μ 受容体作動活性



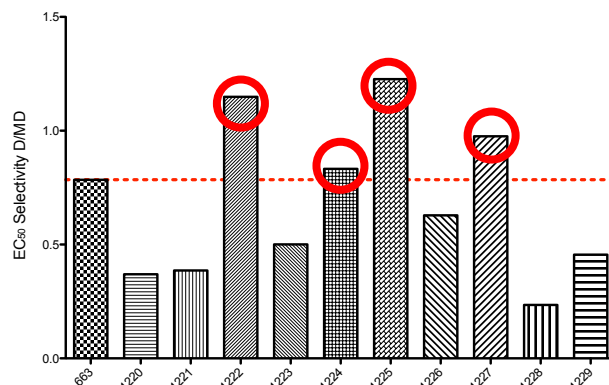
δ 受容体作動活性



評価化合物を cAMP assay を用いて各受容体に対する作動活性を評価したところ、SYK-1225 を除いて μ - δ および δ 受容体に対して部分作動活性もしくは完全作動活性を示した。一方、 μ 受容体に対しては ML335 と異なり、ほとんど作動活性を示さなかった(現在、濃度範囲を変えて検討中)。

μ 受容体と μ - δ 受容体に対する EC₅₀ 値の比を計算してみたところ、SYK-663 と比べて SYK-1222、1224、1225、1227 の受容体選択性が向上していることが分かった。

つまり propyl 基と benzyl 基、pentyl 基と phenylpropyl 基とが同じような距離に置換基が配置されると考えられる。Emax (μ - δ) を比較すると propyl 基 > benzyl 基、pentyl 基 < phenylpropyl 基となることから、17 位窒素から炭素鎖 3 つ分に相当する距離に phenyl 基よりも小さい置換基を、炭素鎖 5 つ分に相当する距離に高い置換基を入れると選択性と活性の向上が見込めると考えた。



上記の結果をかんじ、置換基を配置すると μ - δ 受容体選択性が向上する可能性が見出せた。合成の容易さを考え、炭素鎖 3 つ分に相当する置換基の導入を行った。導入置換基は propargyl 基、allyl 基、isobutyl 基、cyclobutylmethyl 基、cyclopentylmethyl 基、cyclohexylmethyl 基とし、化合物を合成した。評価に関しては現在検討中である。

「SYK-556 誘導体合成」

当初の予定ではプロペラン型化合物 SYK-556 の誘導体を合成する予定であったが、化合物ライブラリーから SYK-556 以上に μ - δ 受容体に対し高活性な化合物である SYK-642 (6,14-エポキシモルヒナン誘導体)を見出した。そのため、SYK-642 誘導体を合成し、検討を行うこととした。

「SYK-642 誘導体合成と評価結果」

まず初めに SYK-642 の構造に含まれるアミド側鎖の鎖長が μ - δ 受容体作動活性に与える影響について検討するため、アミド側鎖に phenyl 基、benzyl 基、phenethyl 基を有する化合物を合成し、評価をおこなった。その結果、phenyl 基を有する SYK-1000 が最も μ - δ 受容体作動活性が高かったため、以降の誘導体合成は SYK-1000 を基に行う事とした。

続いて phenyl 基の電子密度が μ - δ 受容体作動活性および μ - δ 受容体選択性に与える影響を検討するため、phenyl 基のパラ位に chloro 基、methoxy 基、dimethylamino 基、オルト位に chloro 基を有する化合物を合成し、評価を行った。その結果、phenyl 基上の電子密度の増減に関わらず、パラ位に置換基を導入する事で各受容体の作動活性が低下することが分かった。また、オルト位に chloro 基を有する化合物は SYK-1000 と同等の作動活性を有しており、変化は認められなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 加賀谷龍, 染谷僚人, 芦沢夏鈴, 平山重人, 宮野加奈子, 藤井秀明, 上園保仁
2. 発表標題 モルヒネ様化合物の構造を基に設計された新規化合物の各オピオイド受容体に対する効果解析
3. 学会等名 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム2019
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究協力者	藤井 秀明 (Fujii Hideaki)		
研究協力者	上園 保仁 (Uezono Yasuhito)		

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